



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**DESENVOLVIMENTO DE UM NOVO COMPLEXO DE COBRE(II) PARA
ATIVIDADE DE CATECOLASE**

THIAGO VALDARES DE OLIVEIRA

Florianópolis
Novembro/2015

Thiago Valdares de Oliveira

**DESENVOLVIMENTO DE UM NOVO COMPLEXO DE COBRE(II) PARA
ATIVIDADE DE OXIDAÇÃO**

Relatório apresentado ao Departamento de Química
da Universidade Federal de Santa Catarina,
como requisito parcial da disciplina de
Estágio Supervisionado II (QMC 5512)

Profª Drª ROSELY APARECIDA PERALTA (Orientadora)

Florianópolis
Novembro/2015

Thiago Valdares de Oliveira

**DESENVOLVIMENTO DE UM NOVO COMPLEXO DE COBRE(II) PARA
ATIVIDADE DE OXIDAÇÃO**

Prof. Dr. Alexandre Luis Parize
Coordenador de Estágio do Curso de Química-Bacharelado

Banca Examinadora:

Profª Drª Rosely Aparecida Peralta
Orientadora

Prof. Dr. Bernardo de Souza

Dr. Tiago Pacheco de Camargo

Florianópolis
Novembro/2015

*Dedico este trabalho a meus pais Iliany e Valdares
por todo apoio e carinho dado ao longo dos anos.*

Agradecimentos

A todas as atividades que fazemos somos gratos por aqueles que nos oferecem ajuda, e nada mais justo de retribuí-los em forma de agradecimentos. Quero agradecer e dedicar este trabalho aos meus pais Iliany e Valdares que sempre estiveram ao meu lado, me apoiando, incentivando e cobrando, pois sei que desejam o melhor para mim. Toda a educação e amor dado ao longo deste tempo me guiaram e me fortaleceram para as dificuldades que enfrentei que juntos soubemos superar.

Agradecer a Professora Rosely Peralta por ter me concedido a oportunidade e confiança durante todo o projeto de pesquisa, desde tão cedo quando recém havia ingressado na universidade. Os incentivos e questionamentos feitos me levaram a buscar sempre mais fontes de conhecimento. Aos professores Ademir Neves, Adailton Bortoluzzi, Bernardo Souza e Tiago Camargo que me deram muitas sugestões e conversas que foram de grande incentivo para o desenvolvimento do projeto.

Agradecer as duas pessoas que mais me aturaram, me divertiram, me cobraram e claro me ajudaram muito. Beatriz e Sheila souberam ser excelentes amigas e que contribuíram de forma significativa para a minha formação acadêmica. Obrigado pelos abraços, pelas risadas e que sejam assim espontâneas como nossas amizades.

Agradecer ao jovem Marcos Paulo que me suportou além da zoeira. Obrigado pelas ajudas e incentivos, pelas atividades esportivas e pelo título de campeão de vôlei nos jogos universitários. Os momentos de diversão e risadas foram muito importantes, mesmo que não tenham sido “ótimas” piadas. A minha amiga de bancada Cláudia Chaves, que me ajudou muito em meu projeto. Obrigado pelo convívio da bancada, com nossas alegrias, tentativas e surpresas (e como tivemos surpresas). A todo apoio, meus agradecimentos.

A excelentíssima amiga Graciela, ou simplesmente Gra. Todo o apoio dado foi algo incrível. Obrigado pelas ajudas nas pesquisas, pelos questionamentos e cobranças, que foram muito úteis na busca do melhor para mim. Obrigado também pelas diversas atividades extras e toda a alegria que vivemos, sou honrado e grato por nossa amizade. Agradecer a minha companheira Rhannanda por todo carinho e

compreensão nesta etapa final. Alguém que esteve ao meu lado me incentivando para que alcançasse o máximo que pudesse ter.

Aos amigos do LABINC: Carol, Filipy, Renata, Sarita, Thaisy, André, Cláudia P., Anderson e Bruna (obrigado por salvar as risadas das piadas) agradeço-os por todos os momentos que dividimos no laboratório. Os divertimentos, os questionamentos e a ajuda que cada um me proporcionou foram de grande importância. Aos amigos Lucas Talamini, Marco Antônio e Nicolas que fizeram parte da graduação e das atividades esportivas. Aos clubes que fiz a faço parte, obrigado pelas conquistas e aprendizados.

Agradeço ao Departamento de Química e a Universidade Federal de Santa Catarina pela infraestrutura e oportunidade para minha formação acadêmica. Ao PIBIC pelo incentivo a pesquisa e busca por novos desafios científicos. A CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro no desenvolvimento do projeto de pesquisa. E a todos que fizeram parte de alguma etapa, agradeço pela ajuda fornecida. Obrigado!

Não há satisfação maior do que aquela que sentimos
quando proporcionamos alegria aos outros.

Masaharu Taniguchi

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	13
2.1 Bioinorgânica.....	13
2.2 Enzimas	13
2.3 Metaloenzimas de Cobre	16
2.4 Catecol oxidase e modelos biomiméticos	18
3 OBJETIVOS	21
3.1 Objetivo Geral.....	21
3.2 Objetivos específicos	21
4 METODOLOGIA	22
4.1 Materiais	22
4.2 Métodos de caracterização	22
4.2.1 Ponto de fusão.....	22
4.2.2 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho – IV	22
4.2.3 Ressonância magnética nuclear – RMN ¹ H e RMN ¹³ C	23
4.2.4 Espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta visível – UV-vis	23
4.2.5 Espectrometria de massas.....	23
4.2.6 Eletroquímica	24
4.2.7 Difratometria de raios X.....	24
4.2.8 Condutividade molar.....	24
4.2.9 Testes cinéticos	25
4.3 Sínteses	25
4.3.1 Síntese do Hbpa-NO ₂	25
4.3.2 Síntese do ligante Hbpa-NO ₂ -CN	27
4.3.3 Síntese do complexo [Cu(bpa-NO ₂ -CN)(OAc)(H ₂ O)].....	28

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5.1. Caracterizações do Hbpa-NO₂.....	29
5.1.1 Ponto de fusão.....	29
5.1.2 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho - IV	29
5.1.3 Ressonância magnética nuclear RMN ¹ H e RMN ¹³ C	30
5.2 Caracterizações do ligante Hbpa-NO₂-CN	33
5.2.1 Ponto de fusão.....	33
5.2.2 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho - IV	33
5.2.3 Ressonância magnética nuclear RMN ¹ H e RMN ¹³ C	34
5.2.4 Espectrometria de massas.....	37
5.2.5 Difractometria de raios X.....	37
5.3 Caracterização do complexo [Cu(bpa-NO₂-CN)(OAc)(H₂O)].....	38
5.3.1 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho - IV	38
5.3.2 Espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta-visível - UV-Vis	40
5.3.3 Condutividade molar.....	43
5.3.4 Espectrometria de massas.....	44
5.3.5 Eletroquímica	45
5.3.6 Difractometria de raios X.....	47
5.3.7 Cinética de oxidação	50
5.3.8 Eletroquímica associada ao substrato tetraclorocatecol.....	55
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	57
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58

LISTA DE ESQUEMAS E FIGURAS

ESQUEMA 1 Conversão de lactato em piruvato.....	14
ESQUEMA 2 Transferência de um grupoamino da alanina para o α -cetogluturato ..	14
ESQUEMA 3 Representação de uma hidrólise em uma proteína genérica.	15
ESQUEMA 4 Transformação do piruvato em acetaldeído	15
ESQUEMA 5 Isomerase da L-alanina para a D-alanina	15
ESQUEMA 6 Exemplo de ligase promovida pela enzima glutamina sintetase.....	16
FIGURA 1 Estrutura da enzima catecol oxidase isolada da <i>Ipomoea batatas</i>	18
ESQUEMA 7 Equação química para a oxidação do catecol.	18
ESQUEMA 8 Mecanismo proposto para oxidação de o-difenóis	19
ESQUEMA 9 Rota sintética para o Hbpa-NO ₂	26
ESQUEMA 10 Rota sintética para o ligante Hbpa-NO ₂ -CN.	27
ESQUEMA 11 Síntese do complexo [Cu(bpa-NO ₂ -CN)(OAc)(H ₂ O)].	28
FIGURA 2 Espectro vibracional da região do infravermelho do Hbpa-NO ₂	29
FIGURA 3 Espectro de RMN ¹ H do Hbpa-NO ₂	31
FIGURA 4 Espectro de RMN ¹³ C do Hbpa-NO ₂	32
FIGURA 5 Espectro vibracional na região do infravermelho do Hbpa-NO ₂ -CN.	33
FIGURA 6 Espectro de RMN ¹ H do ligante Hbpa-NO ₂ -CN.....	35
FIGURA 7 Espectro de RMN ¹³ C do ligante Hbpa-NO ₂ -CN.	36
FIGURA 8 Espectro de massas ESI-MS do ligante Hbpa-NO ₂ -CN.....	37
FIGURA 9 Estrutura do ligante Hbpa-NO ₂ -CN obtida por difração de raios X.	38
FIGURA 10 Espectros de infravermelho do ligante e do complexo sobrepostos	39
FIGURA 11 Espectro eletrônico do complexo, na região da banda <i>d-d</i>)	41
FIGURA 12 Espectro eletrônico do complexo e ligante na região referente à transferência de carga.....	42
FIGURA 13 Espectro eletrônico do complexo no estado sólido	43
FIGURA 14 Espectro de massas ESI-MS do complexo	45
FIGURA 15 Voltamogramas cíclicos do complexo	46
FIGURA 16 Voltamograma de onda quadrada do complexopreto.....	46
FIGURA 17 Estrutura do complexo de cobre(II) por difração de raios X.	48
ESQUEMA 12 Oxidação do substrato 3,5-DTBC na presença de O ₂	50
FIGURA 18 Dependência da velocidade de reação de oxidação do 3,5-di- <i>terc</i> -butilcatecol em função do pH.....	51
FIGURA 19 Cinética de oxidação	52
FIGURA 20 Dependência da velocidade de reação do 3,5 – DTBC com a concentração do substrato.....	52
FIGURA 21 Voltametria de onda quadrada do complexo com o substrato	56

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 Atribuições das bandas no infravermelho para o Hbpa-NO ₂	30
TABELA 2 Deslocamentos químicos para o Hbpa-NO ₂ (RMN ¹ H 200 MHz).....	31
TABELA 3 Deslocamentos químicos para o Hbpa-NO ₂ (RMN ¹³ C 400 MHz).....	32
TABELA 4 Atribuições das bandas no infravermelho para o ligante Hbpa-NO ₂ -CN.	34
TABELA 5 Deslocamentos químicos para o Hbpa-NO ₂ -CN (RMN ¹ H 200 MHz)	35
TABELA 6 Deslocamentos químicos para o Hbpa-NO ₂ -CN (RMN ¹³ C 400 MHz)	36
TABELA 7 Dados cristalográficos da estrutura do ligante Hbpa-NO ₂ -CN.	38
TABELA 8 Atribuições dos espectros de infravermelho para o ligante e complexo. ...	39
TABELA 9 Absortividade molar do complexo na região de transferência interna	41
TABELA 10 Absortividade molar do complexo na região da banda intraligante.....	42
TABELA 11 Condutimetria do complexo de cobre(II)	44
TABELA 12 Dados cristalográficos da estrutura do complexo de cobre(II)	48
TABELA 13 Principais comprimentos e ângulos de ligação para o complexo.....	49
TABELA 14 Parâmetros cinéticos para o complexo frente a cinética de oxidação. ...	53

RESUMO

Quando compreendemos e verificamos a eficiência e/ou desempenho de processos naturais comparados a modelos sintéticos, percebemos o quão distintos podem ser. Determinadas reações ocorrem em velocidades elevadas devido a estruturas químicas que através de ordem natural ou sintética, “facilitam” o caminho da reação, seja por diminuição de energia necessária para que a mesma ocorra, seja por orientação favorável dos reagentes, ou outros fatores. Porém algo que é bastante notório é que aquelas estruturas químicas naturais que aumentam a velocidade de uma reação, de modo geral, são muito mais eficientes quando comparados a modelos análogos de forma sintética.

O presente trabalho teve por finalidade desenvolver moléculas inorgânicas de baixa massa molecular que possam ser consideradas oxidases artificiais. Considerando que processos de ordem biológica necessitam de processos catalíticos, que são sensíveis a variações de temperatura e concentração, que são fatores que influenciam em uma catálise, o uso de enzimas ou modelos biomiméticos é de grande interesse de pesquisa. Foram sintetizados e caracterizados o ligante (Hbpa-NO₂-CN) e seu complexo de cobre(II) correspondente ([Cu(bpa-NO₂-CN)(OAc)(H₂O)]). Ambos tiveram suas estruturas cristalinas determinadas por difração de raios X e foi caracterizado também por espectroscopia eletrônica, eletroquímica, infravermelho e espectrometria de massas foi também caracterizado. Estudos frente à oxidação do substrato 3,5-di-*terc*-butilcatecol demonstraram que o complexo de cobre(II) apresenta atividade catalítica e tem uma atividade catalítica comparável a modelos similares descritos na literatura.

Palavras chaves: metaloenzimas de cobre, biomiméticos, catalisadores.

1 INTRODUÇÃO

A química inorgânica biológica é uma área que estuda o papel dos metais, em grande parte os metais de transição, em sistemas biológicos. Por ser um ramo de pesquisa multidisciplinar envolve diversas áreas do conhecimento, nas quais um grande número de pesquisadores tem contribuído para o avanço da ciência.

Um de seus ramos de pesquisa é a busca de modelos de baixa massa molecular para mimetizar a estrutura e/ou reatividade das metaloenzimas. As condições de reação suaves em que enzimas trabalham, indicam uma metodologia alternativa para processos tradicionais de oxidação utilizados na indústria. Porém, a adaptação e uso destes catalisadores biológicos às condições industriais não é uma tarefa simples.

O estudo de catalisadores inorgânicos além de permitir a compreensão dos ciclos catalíticos das enzimas, pode fornecer uma alternativa mais barata e menos sensível às condições reacionais. A busca por modelos que simulem as metaloenzimas têm sido investigada na tentativa de que modelos sintéticos, denominados modelos biomiméticos, tenham a capacidade de simular mecanismos enzimáticos. As metaloenzimas contêm centros metálicos em suas estruturas e algumas delas se destacam pela presença do átomo de cobre.

O cobre é um dos metais de maior uso, desde a indústria até mesmo na alimentação, sendo conhecido por vários processos em sistemas biológicos. Desenvolver novos modelos que contenham em seu sítio ativo átomos de cobre(II), que apresentem atividade catalítica, levam a busca de novas perspectivas para a compreensão de seus mecanismos de ativação e a motivação por novos métodos de sínteses.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Bioinorgânica

A química a cada dia nos revela mais informações sobre aquilo que nos cerca. Uma das grandes áreas de pesquisa na química é a química inorgânica, que possui grande impacto em nossas vidas, seja pela formulação de compostos pela indústria, pelo ambiente que nos rodeia ou por aquilo que nos compõe.¹

Os compostos inorgânicos possuem uma ampla variedade de propriedades, reatividades, e estruturas que nos permitem compreender muito sobre a tabela periódica. As propriedades podem ser explicadas e interpretadas com o auxílio de modelos baseados na química quântica de modo qualitativo, tais como, orbitais atômicos e o seu uso para a construção de orbitais moleculares. À medida que a interdisciplinaridade avançou no ramo da pesquisa, novas áreas surgiram, como por exemplo, a química bioinorgânica.^{1,2}

A química bioinorgânica descreve a relação recíproca entre a química inorgânica e a bioquímica com foco sobre a função de compostos inorgânicos e/ou íons em sistemas vivos. Dentre esses processos estão a maioria dos metabolismos, a fixação de nitrogênio, a fotossíntese, a respiração, os neurotransmissores, e transmissão de impulsos nervosos. Sendo assim, a bioinorgânica estuda o papel dos metais, principalmente dos metais de transição, em sistemas biológicos.^{2,3}

Como um dos campos mais dinâmicos da ciência contemporânea, a química bioinorgânica está entre a química, biologia e medicina na resolução de grandes descobertas científicas. Esta rápida expansão gera questionamentos sobre os usos de íons metálicos na natureza e o modo como cada um atua no sistema biológico. Considerando a estimativa de que cerca de um terço das proteínas contenham um íon metálico na sua composição, a compreensão sobre estes sistemas permite novas perspectivas.^{4,5}

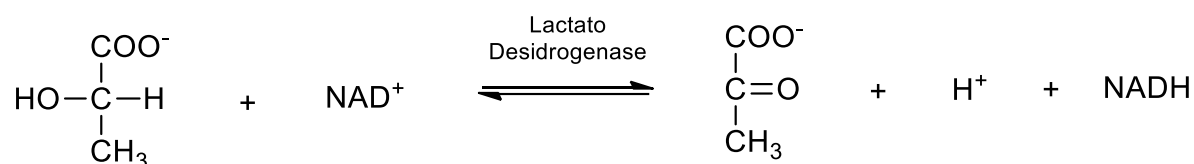
2.2 Enzimas

As proteínas são polímeros de aminoácidos ligados por ligações peptídicas (ligações do tipo amida). Quando os resíduos de aminoácidos se coordenam aos íons metálicos, a proteína é designada de metaloproteína. Quando a metaloproteína apresenta atividade de catálise, a mesma é designada de metaloenzima. Uma vez

que a definição de catalisador é qualquer substância que aumenta a velocidade de uma reação diminuindo a energia de ativação para que a reação ocorra, sem ser consumido durante o processo. Portanto, as enzimas são consideradas como catalisadores biológicos.^{2,6,7,8}

Segundo a União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular, as enzimas podem ser classificadas de acordo com as reações que catalisam, sendo divididas em seis grandes grupos:^{9,10,11}

1 – Oxirredutases: são as enzimas que catalisam reações de oxidação-redução. O substrato oxidado é um doador de elétron e o termo oxidase é usado apenas nos casos onde o O₂ é o receptor de elétrons. São classificadas em subclasses, pois atuam em diferentes grupos doadores ou aceptores. Alguns exemplos, como no Esquema 1, desta classe de enzimas são as oxidases, peroxidases, catecolases, entre outras.¹¹



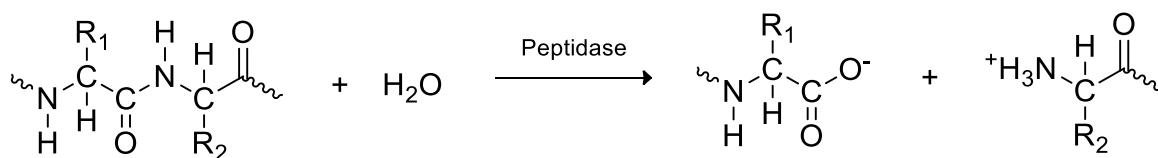
Esquema 1. Conversão de lactato em piruvato promovida pela enzima lactato desidrogenase.

2 – Transferases: são enzimas que catalisam a transferência de um grupo de um composto (normalmente chamado de doador), para outro composto (receptor), sendo alguns exemplos de grupos a serem transferidos: metil, glicosil, amino, etc. O doador pode ser um cofator (coenzima) que carrega o grupo a ser transferido. O Esquema 2 mostra um exemplo da transferência de um grupo amino, promovida pela enzima alanina aminotransferase.¹¹



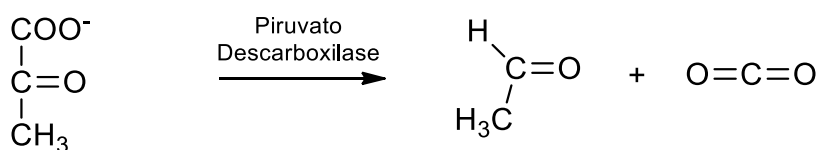
Esquema 2. Transferência de um grupamento amino da alanina para o α-cetoglutarato promovida por uma enzima do tipo transferase.

3 – Hidrolases: catalisam reações de hidrólise de várias ligações covalentes. Em geral, o nome da enzima é dado “substrato” + o sufixo “ase”. Um exemplo é o caso das peptidases que catalisam a hidrólise de ligações peptídicas, conforme exemplo mostrado no Esquema 3.¹¹



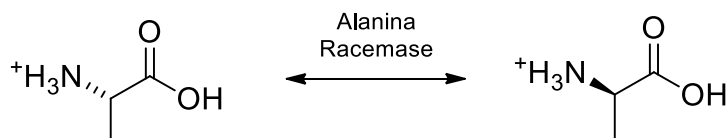
Esquema 3. Representação de uma hidrólise em uma proteína genérica.

4 – Liases: catalisam a clivagem de ligações C-O, C-N, C-C e outras ligações por eliminação, clivagem de duplas ligações ou anéis, e adição de grupos a duplas ligações. Entre as mais conhecidas, encontramos as descarboxilases, aldolases, desidratases ou mesmo liases. O Esquema 4 mostra a transformação do piruvato em acetaldeído promovida pela enzima piruvato descarboxilase, um exemplo de enzima do tipo liase.¹¹



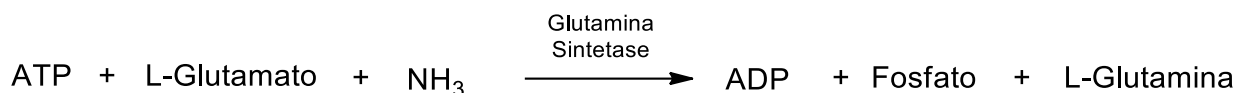
Esquema 4. Transformação do piruvato em acetaldeído e gás carbônico promovida pela enzima piruvato descarboxilase.

5 – Isomerases: catalisam a modificação de uma única molécula promovendo variações estruturais ou geométricas. Alguns exemplos se destacam como as Racemases (Esquema 5) e as Epimerases que catalisam a reação de racemização e epimerização, respectivamente, de centros quirais e as cis-trans-Isomerases que rearranjam a geometria de duplas ligações.¹¹



Esquema 5. Exemplo de uma racemase, um tipo de isomerase que ocorre quando há a conversão da L-alanina (esquerda) para a D-alanina (direita).

6 – Ligases: catalisam reações de síntese de uma nova molécula a partir da ligação entre duas moléculas, com a concomitante hidrólise de ATP ou outro composto trifosfatado, conforme um exemplo no Esquema 6.¹¹



Esquema 6. Exemplo de ligase, promovida pela enzima glutamina sintetase.

2.3 Metaloenzimas de Cobre

Boa parte das reações químicas é classificada como reações de oxidação ou redução. A adição de oxigênio, a remoção de hidrogênio ou a remoção de elétrons de um substrato orgânico é definida como oxidação. Mesmo que a oxidação de compostos orgânicos por oxigênio seja algo espontâneo, algumas delas requerem o uso de catalisadores metálicos ou enzimas que efetuem a catálise, devido a alta energia de ativação que estas reações requerem. Algumas destas enzimas contêm um ou mais centros de cobre. A quantidade de íons metálicos bem como o ambiente de coordenação dos mesmos define a especificidade e seletividade dessas metaloenzimas para as mais diversas atividades de catálise.^{9,12,13}

São encontrados diferentes tipos de sítios ativo redox que apresentam cobre como cofator. Com base nas suas características espectroscópicas, primeiramente todas as proteínas de cobre foram classificadas em três classes: Tipo I, Tipo II e Tipo III. Atualmente, as enzimas que contêm cobre em seu sítio ativo são classificadas em sete tipos de classes: Tipo I, Tipo II, Tipo III, Tipo IV, CuA, CuB e CuZ. Isso foi possível devido ao progresso, principalmente dos métodos espectroscópicos e de cristalização.¹⁴

O Tipo I, as proteínas azuis de cobre, refere-se às proteínas que apresentam em seu sítio ativo centros de cobre com geometria tetraédrica altamente distorcida. Seu nome deriva da intensa cor azul, contida na transferência de carga ligante-metal em cerca de 620 nm no espectro eletrônico entre cisteína-cobre(II). Um exemplo para este tipo de proteína é a azurina. O Tipo II é caracterizado pela geometria tetraédrica ou quadrado planar, por ligantes N-doadores ou N,O-doadores que facilitam sua oxidação, tendo como exemplo a galactose oxidase. Ambos os tipos são centros

mononucleares de cobre(II) e são conhecidas como proteínas “normais” de cobre(II).^{2,14,15,16}

O Tipo III e CuA são caracterizados por um centro binuclear de cobre, sendo que suas características eletrônicas são muito distintas. O Tipo III contém centros binucleares de cobre acoplados em seus sítios ativos, o que faz com que este sítio ativo possua a habilidade de se ligar reversivelmente à molécula de oxigênio em condições ambientes. Os resíduos de histidina coordenam cada átomo de cobre(II). Nesta classe a característica marcante é um silencioso sinal de EPR (Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica) devido ao acoplamento antiferromagnético entre os dois centros de cobre(II). Um exemplo deste tipo de enzima é a catecol oxidase. A classe CuA é conhecida como sítio de valência mista e geometria tetraédrica, sendo um exemplo a Nitro Óxido Redutase.^{2,14,15,16,17}

O Tipo IV normalmente é composto pelos Tipos II e III. Elas são responsáveis por uma vasta possibilidade de reações de oxidação, por exemplo, a enzima Lacase. Já o tipo CuZ é composto por quatro íons dispostos a formar um tetraedro, enquanto que o Tipo CuB é característico pela presença de um sítio mononuclear de cobre próximo a um centro de ferro na Citocromo C Oxidase.^{2,12,14,15,16,17}

Uma das atividades das enzimas oxirredutases é a oxidação de hidrocarbonetos. Diversos processos industriais têm sido estudados para a utilização econômica e ecológica dessa atividade. A utilização e transformação direta de aromáticos para diversos usos químicos via ativação da ligação C-H, tem interessado e desafiado os ramos industriais. No entanto um dos maiores problemas é a resistência à oxidação de núcleos aromáticos, devido a sua habilidade de ter a estabilidade com base no sistema conjugado através da alta energia de dissociação da ligação do carbono sp^2 - hidrogênio. Sistemas mais enérgicos em geral são utilizados, todavia o uso de catalisadores, em especial os íons metálicos, tem sido alvo de estudos. Complexos de cobre derivados de cloreto e éteres de coroa têm sido relatados com eficiência para catálise e polimerização de fenóis.^{18,19}

Outra atividade de processo de oxidação é a oxidação de fenóis. As fenóis oxidases são enzimas que contêm cobre e são capazes de oxidar compostos aromáticos. Podem ainda atuar sobre espécies inorgânicas além do cobre(II), incluindo o manganês(II). A Lacase é uma enzima polifenol oxidase encontrada em insetos, plantas, bactérias e fungos. O uso de biomiméticos desta enzima é bastante amplo e destaca-se o potencial para ser utilizada em diversas aplicações que vão

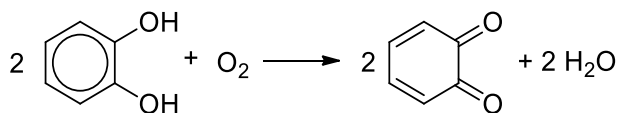
desde processos da indústria de papel e celulose, têxtil, cosmética, na detoxificação de efluentes, degradação de ligninas, descoloração de corantes têxteis, em síntese inorgânica e biorremediação.^{20,21,22,23}

2.4 Catecol oxidase e modelos biomiméticos

Por sua vez a catecol oxidase (Figura 1) também chamada de *o*-difenol oxidase, é uma enzima de cobre que catalisa a oxidação de fenóis bem como o catecol e pertence a classe do Tipo III das proteínas de cobre. A capacidade de catalisar reações de oxidação envolve a transferência de dois elétrons de uma ampla variedade de *o*-difenois as respectivas *o*-quinonas, levando à redução do oxigênio à água (Esquema 7).



Figura 1. Estrutura da enzima catecol oxidase isolada da *Ipomoea batatas*.²⁵

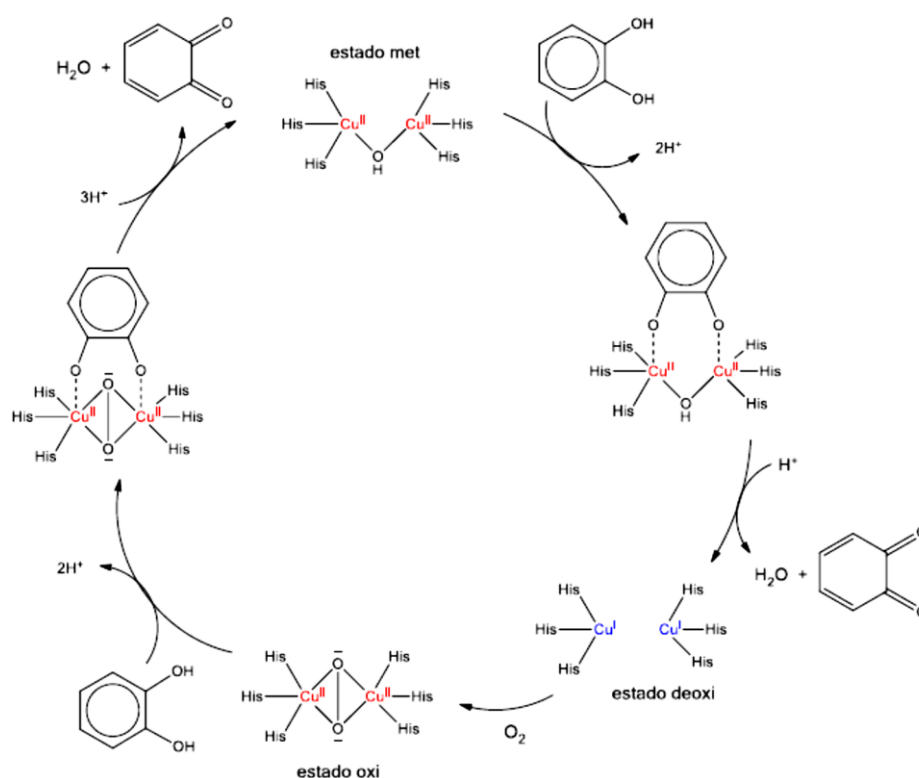


Esquema 7. Equação química para a oxidação do catecol.

Através do processo chamado de atividade de catecolase, as quinonas resultantes são altamente reativas, dependendo do substrato, e então sofrem auto polimerização. Esta reação, produzindo a benzoquinona é uma forma de escurecimento enzimático que é evidenciada em muitos alimentos após

exposição ao oxigênio. Alguns complexos já reportados na literatura mostram a catálise homogênea e heterogênea de sistemas binucleares de cobre(II), propondo um mecanismo com base nas técnicas espectrométricas e parâmetros cinéticos.^{14,16,24}

O mecanismo mais aceito para a catecol oxidase é o ciclo catalítico indicando que o substrato coordena-se à enzima de forma bidentada, formando durante o seu ciclo duas moléculas da quinona e água. Estudos recentes mostram que o mecanismo tem início com a estrutura da catecol oxidase em sua forma oxidada (*met* ou *oxi*). Ocorre então a ligação do substrato *o*-difênol a catecol oxidase de forma bidentada. A sequência gera a reação de oxidação formando o produto *o*-quinona e o estado reduzido da enzima, denominado *deoxi*. Quando o estado *deoxi* liga-se a uma molécula de O_2 , gera um estado denominado *oxi*, que sofre o ataque de outra molécula de substrato. Desta forma a oxidação da segunda molécula de *o*-difênol tem a capacidade de regenerar a forma catalítica da enzima podendo o ciclo ser novamente reiniciado conforme o Esquema 8 abaixo.^{16,24}



Esquema 8. Mecanismo proposto para oxidação de *o*-difênóis promovida pela catecol oxidase.²⁴

Ainda que vários complexos de cobre binucleares sejam ativos na catálise de oxidação de catecóis, um grande número de complexos de cobre(II) mononucleares também tem sido reportados por apresentar atividade significativa de catecolase. A atividade catalítica dos complexos mononucleares pode ser adaptada por variação da geometria e aos fatores estéricos que rodeiam o centro metálico. Deste modo, há a possibilidade de investigar a atividade e a estrutura para estes compostos. Alguns mecanismos são propostos para diferentes modelos de catecol oxidase de compostos binucleares de cobre, no entanto raros são aqueles para complexos mononucleares.²⁶

Com o objetivo de obter uma compreensão mais profunda de vários processos de oxidação químicas e biológicas, novos recursos e estudos de modelagem de moléculas de massa molar pequena podem informar como um mecanismo pode ser descrito.²⁶

Um composto biomimético é aquele que possui ação ou atividade similar à de compostos naturais, sendo estes sintetizados e modelados conforme o aspecto natural desejado. Reproduzir aquilo que procede de forma natural não é uma tarefa simples, e exige muita compreensão de como age cada sistema que se tenta “copiar”. Alguns trabalhos tem sido reportados na tentativa de desenvolver modelos biomiméticos, como no caso proposto por FERNANDES²⁷ *et al.* onde um modelo binuclear de cobre(II) mostrou ser biomimético do centro ativo da catecol oxidase como sensor biomimético para esta enzima na determinação de catequina em chá verde. Também foi descrito por AYAD²⁸ que sintetizou complexos de cobalto(II) e cobre(II) com ligantes N_2O_2 doadores para atividade catalítica biomimética da catecol oxidase. Outro exemplo é o estudo teórico de enzimas multinucleares de cobre para propostas de materiais biomiméticos, descrito por XIMENES²⁹ *et al.* que através de cálculos teóricos pode identificar, determinar e otimizar a sequência de aminoácidos importantes para o processo de oxirredução.²⁹

O modo como estes modelos podem ser aplicados, tanto para a indústria têxtil a tratamentos de efluentes e em sistemas biológicos acaba por motivar o trabalho na tentativa da descoberta e auxiliando na solução de problemas bem como na curiosidade em que cada sistema é descrito.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

O principal objetivo do projeto é a síntese e caracterização de um novo ligante e seu respectivo complexo de cobre(II) e investigação de reatividade em estudos de reações de oxirredução.

3.2 Objetivos específicos

- Síntese do ligante Hbpa-NO₂-CN;
- Síntese de um novo complexo de cobre(II);
- Caracterização dos novos compostos (ligante e complexo) por diversas análises como: espectroscopia vibracional na região do infravermelho – IV espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta visível – UV-Vis, espectrometria de massas ESI-MS, ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono, eletroquímica e difração de raios X;
- Investigação do estudo de reatividade de reações redox de interesse na atuação como modelos biomiméticos de catecol oxidase, utilizando o substrato 3,5-di-*terc*-butilcatecol.

4 METODOLOGIA

4.1 Materiais

Os materiais, reagentes e solventes descritos a seguir serão utilizados de fontes comerciais e sem purificação prévia, sendo: acetonitrila UV/HPLC e LC/MS, metanol UV/HPLC e LC/MS, 2-hidróxi-5-nitrobenzaldeído, acetona, gás argônio (grau analítico 5.0), gás O₂ (grau analítico 2.8), borohidreto de sódio (NaBH₄), cloreto de potássio (KCl), acrilonitrila, acetato de cobre(II) monohidratado (Cu(OAc)₂ · H₂O), acetonitrila P.A., metanol P.A., clorofórmio P.A., clorofórmio deuterado, éter dietílico P.A. hexano P.A., isopropanol P.A., diclorometano P.A., ácido clorídrico concentrado (37%), água destilada, perclorato de sódio (NaClO₄), hexacianoferrato de potássio (K₃[Fe(CN)₆]). O reagente 2-aminometilpiridina foi destilado à pressão reduzida (Ponto de ebulição 82 °C). O substrato 3,5-di-*tert*-butilcatecol foi recristalizado em hexano e o substrato tetraclorocatecol recristalizado em acetonitrila.

4.2 Métodos de caracterização

4.2.1 Ponto de fusão

Os pontos de fusão foram determinados para as amostras sólidas em um equipamento Büchi Melting Point B-540 no Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia, Departamento de Química – UFSC.

4.2.2 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho – IV

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em um espectrofotômetro Perkin Elmer FT-IR Spectrofotometer Spectrum 100, na região de 4000 a 400 cm⁻¹ no Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia (LABINC) do Departamento de Química – UFSC. As amostras foram preparadas por dispersão da amostra em brometo de potássio (KBr) de grau espectroscópico e prensadas (cerca de 5 toneladas) formando pastilhas com aproximadamente 1 cm de diâmetro e 0,5 mm de espessura. As pastilhas foram introduzidas no caminho óptico do equipamento e a leitura analisada pelo percentual de transmitância (%T).

4.2.3 Ressonância magnética nuclear de Hidrogênio e Carbono – RMN ^1H e RMN ^{13}C

Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C dos compostos foram obtidos em um espectrofotômetro Bruker - AC 200 e 400 MHz (para ^1H) e (para ^{13}C) respectivamente, na Central de Análises do Departamento de Química – UFSC. Os deslocamentos químicos de hidrogênio (δ) foram registrados em ppm tendo como referência interna o tetrametilsilano (TMS, $\delta = 0,00$ ppm) utilizando clorofórmio deuterado como solvente para análise.

4.2.4 Espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta visível – UV-vis

Os espectros eletrônicos na região do ultravioleta visível e infravermelho próximo foram obtidos em um espectrofotômetro Lambda 750, no Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia (LABINC), do Departamento de Química – UFSC. As análises foram realizadas utilizando solventes de grau espectroscópico (acetonitrila HPLC) em cubetas de quartzo com capacidade máxima de 4,0 mL e 1,0 cm de caminho óptico. Experimento no estado sólido (refletância difusa) foi realizado no mesmo equipamento (através de módulo acoplado) onde as amostras foram dispersas em pastilha de KBr espectroscópico, similares às utilizadas na espectroscopia na região do infravermelho.

4.2.5 Espectrometria de massas

Os compostos obtidos, tanto o ligante quanto o complexo, foram analisados em um espectrômetro de massas com ionização via eletrospray (ESI - MS) Amazon – IonsTrap-MS do Centro de Biologia Molecular Estrutural (CEBIME) – UFSC. As análises foram realizadas em soluções de acetonitrila grau MS com concentração em torno de 500 ppb (partes por bilhão) com fluxo de $180\ \mu\text{L min}^{-1}$. Temperatura do capilar foi mantida entre 180 e 200 °C e a voltagem do capilar entre -400 e -500 V.

4.2.6 Eletroquímica

O comportamento redox do complexo foi analisado em um potenciostato/galvanostato BASi Epsilon E2 1160, no Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia do Departamento de Química – UFSC. Os experimentos foram realizados em água com a concentração do complexo de $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, sob atmosfera de argônio. Como eletrólito de suporte foi utilizada uma solução aquosa contendo cloreto de potássio (KCl, $0,1 \text{ mol L}^{-1}$). O eletrodo de referência utilizado foi um eletrodo comercial de Ag/AgCl (BASi) ($E_{1/2}$ vs ENH = 197 mV).³⁰ Quando utilizado em meio orgânico (metanol) foi preparada uma solução contendo perclorato de sódio (NaClO_4 , $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$). Para a utilização em metanol foi utilizado um eletrodo de referência Ag/Ag⁺ corrigido com hexacianoferrato de potássio como referência interna ($E_{1/2}$ vs ENH = 358 mV).³¹ As duas análises foram realizadas em uma cela eletroquímica contendo um eletrodo de trabalho de platina e eletrodo auxiliar de platina.

4.2.7 Difratometria de raios X

A análise por difração de raios X em monocristal do complexo de cobre(II) foi realizada na Central de Análises do Departamento de Química – UFSC. Os dados foram coletados em um difratômetro Bruker APEX II DUO usando radiação gerada por um tubo de molibdênio ($\text{MoK}\alpha$ $\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$) e monocromador de grafite, em temperatura de 173,11 K. A estrutura cristalina foi resolvida através dos métodos diretos e refinada pelo método dos mínimos quadrados com matriz completa, utilizando-se os programas SIR-97 e SHELXL-97. A representação gráfica da estrutura molecular foi gerada utilizando o programa PLATON.^{32,33,34}

4.2.8 Condutividade molar

As medidas condutimétricas do complexo foram realizadas no aparelho Metrohm 856, do Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia, Departamento de Química – UFSC. Os complexos foram solubilizados em acetonitrila HPLC, com concentração de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. O aparelho foi calibrado com uma solução padrão de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ cuja condutividade é de $100 \mu\text{S/cm}$ em água a 25°C .³⁵

4.2.9 Testes cinéticos

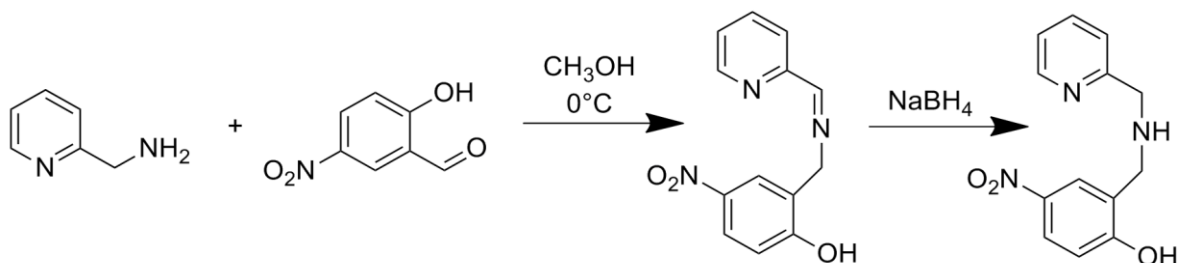
A atividade catalítica do complexo foi avaliada através da reação de oxidação do substrato 3,5-di-*tert*-butilcatecol (3,5-DTBC). Os experimentos cinéticos foram realizados em triplicata sob condições de excesso de substrato monitorando-se espectrofotometricamente, em um espectrofotômetro UV-Vis Varian Cary 50 BIO acoplado a um banho termostatzado a 25,0 °C, a variação da absorbância ocorrida em 400 nm ($\epsilon = 1645 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)¹⁶ referente à formação da 3,5-di-*tert*-butilquinona (3,5-DTBQ). As reações foram tratadas pelo método das velocidades iniciais, que foram obtidas diretamente do gráfico da concentração de substrato *versus* tempo. Os estudos em função do pH para a atividade de catecolase do complexo, o qual visa obter o pH ótimo da atividade frente a oxidação do substrato 3,5-DTBC, foram realizados pela variação do pH entre 4,0 e 10,0 a 25,0 °C. Após determinação do pH ótimo foram realizados testes através da variação da concentração do substrato, em cubetas de vidro com capacidade para 4000 µL e caminho óptico de 1 cm fechadas com tampa de teflon. Foram adicionados 50 µL de solução aquosa dos tampões (MES pH 4,0 a 6,5 e TRIS pH 7,0 a 10,0), [Tampões] = $3,12 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$; 1350 a 650 µL de metanol HPLC saturado com oxigênio; 50 a 750 µL de solução metanólica do substrato, [Substrato]_{final} = $1,25 - 18,8 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; e 50 µL de uma solução metanólica do complexo, [complexo]_{final} = $3,12 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. O surgimento da banda em 400 nm foi monitorado por 15 minutos e em todos os experimentos o volume final da cubeta foi de 1600 µL. As velocidades iniciais foram obtidas através da inclinação da curva da absorbância vs tempo, nos primeiros minutos da reação, pelo método das velocidades iniciais.

4.3 Sínteses

4.3.1 Síntese do Hbpa-NO₂

A síntese para a formação do ligante ocorreu em duas etapas. Na primeira etapa foi sintetizado, segundo a metodologia sintética descrita por PERALTA³⁶, o composto N-(2-hidróxi-5-nitrobenzil)(2-piridilmetil)amina, abreviado como **Hbpa-NO₂**. A reação foi ocorreu através de quantidades equimolares de 2-aminometilpiridina

com 2-hidróxi-5-nitrobenzaldeído, seguida de uma redução com borohidreto de sódio conforme o Esquema 9.

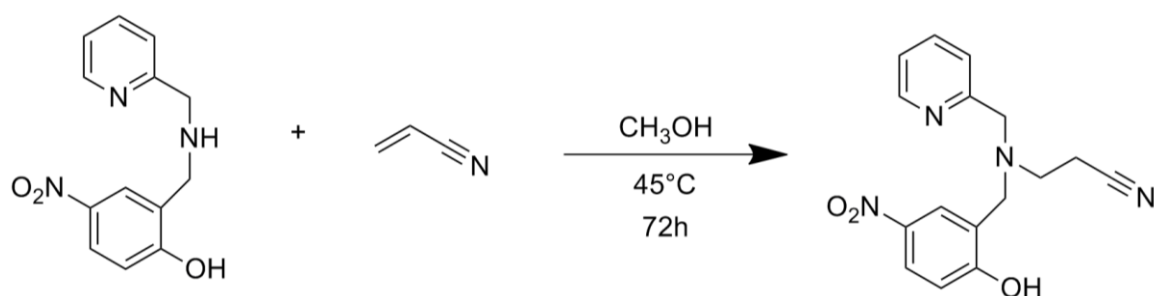


Esquema 9. Rota sintética para o Hbpa-NO₂.

Foram adicionados 1,67 g (10 mmol, MM = 167,12 g mol⁻¹) de 2-hidróxi-5-nitrobenzaldeído a um balão de fundo redondo e solubilizado em aproximadamente 30 mL de metanol. Após solubilização a coloração tornou-se levemente amarelada e a solução foi mantida sob agitação a temperatura ambiente. A este balão foi adicionado lentamente 1,03 mL (10 mmol, d = 1,049 g cm⁻³, m = 1,08g, MM = 108,14 g mol⁻¹) de 2-aminometilpiridina, observando-se uma alteração de coloração para um amarelo forte. Este sistema foi então colocado em banho de gelo e em poucos minutos um precipitado amarelo claro foi formado. Após mais 15 minutos de reação, foi adicionado lentamente e em pequenas porções 0,38 g (10 mmol MM = 37,82 g mol⁻¹) de borohidreto de sódio. A suspensão amarela tornou-se menos intensa à medida que o agente redutor foi adicionado. Quando terminada toda a sua adição, o que levou cerca de 60 minutos, a reação foi mantida sob agitação novamente em temperatura ambiente e reagiu por mais 60 minutos. Em seguida foram adicionados aproximadamente 5 mL de ácido clorídrico 2,0 mol L⁻¹ para ajuste de pH em torno de 6,0-7,0 (verificação pode ser feita através de fita de pH). O balão então foi levado ao sistema de remoção de solvente a pressão reduzida resultando numa espuma amarela. A esta espuma amarela foi adicionado metanol e levado para o freezer (-20°C) por 12 horas, onde foi obtido um precipitado amarelo. O sólido foi então filtrado e lavado com metanol e éter etílico gelado. Após secagem, em dessecador de sílica, foram obtidos 1,67 g de um sólido amarelo com rendimento de 65 % em relação ao reagente de partida 2-hidróxi-5-nitrobenzaldeído. Fórmula molecular C₁₃H₁₃N₃O₃, massa molecular 259,34 g mol⁻¹.

4.3.2 Síntese do ligante Hbpa-NO₂-CN

Por meio de uma adição de Michael³⁷, com modificações da literatura, entre o Hbpa-NO₂ e acrilonitrila (Esquema 10), foi possível a síntese do ligante (3-((2-hidróxi-5-nitrobenzil)(piridil-2-metil)amino)propanonitrila), denominado **Hbpa-NO₂-CN**.

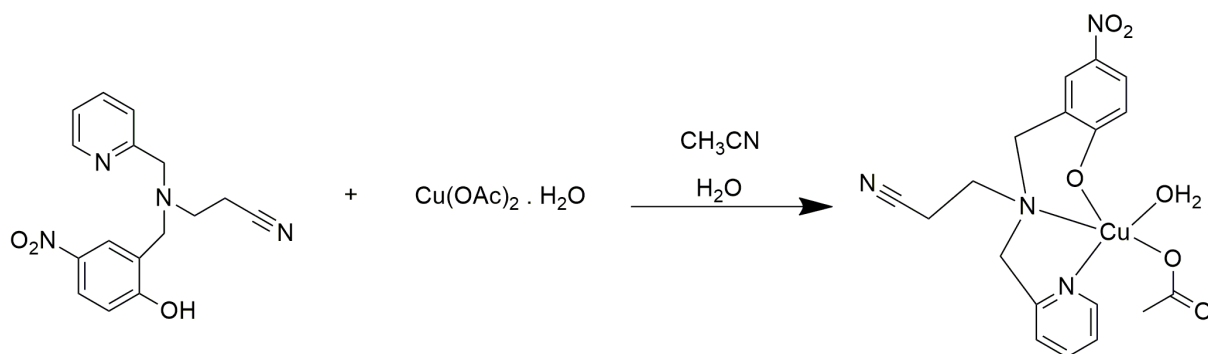


Esquema 10. Rota sintética para o ligante Hbpa-NO₂-CN.

Em um balão de fundo redondo foram adicionados 1,03 g (4 mmol, MM = 259,34 g mol⁻¹) do Hbpa-NO₂ e solubilizados em 70 mL de metanol. Foi necessário um aquecimento da solução para que o Hbpa-NO₂ fosse totalmente solúvel, formando uma solução amarelada. Em seguida foram adicionados 0,65 mL (10 mmol, d = 0,81 g cm⁻³, 0,53 g, MM = 53,06 g mol⁻¹) de acrilonitrila. O sistema foi mantido sob agitação magnética e refluxo por 72 horas, a 45°C. A temperatura deve ser no máximo esta, pois acima deste valor ocorre a polimerização da acrilonitrila, comprometendo assim o rendimento da reação.³⁸ Após este tempo de reação, o solvente e o reagente em excesso foram removidos a pressão reduzida formando um sólido amarelo. Este sólido foi solubilizado em clorofórmio e então o solvente foi deixado evaporar lentamente a temperatura ambiente. Foram obtidos 1,22 g de cristais amarelos, num rendimento de 98% em relação ao reagente de partida Hbpa-NO₂. Foram obtidos monocristais amarelos adequados para a resolução de estrutura por difração de raios X. Fórmula molecular C₁₆H₁₆N₄O₃, massa molecular 312,32 g mol⁻¹.

4.3.3 Síntese do complexo [Cu(bpa-NO₂-CN)(OAc)(H₂O)]

O complexo foi sintetizado partindo de um sal de acetato de cobre(II) monohidratado para formar o complexo [Cu(bpa-NO₂-CN)(OAc)(H₂O)] conforme o Esquema 11.



Esquema 11. Síntese do complexo [Cu(bpa-NO₂-CN)(OAc)(H₂O)].

A síntese do complexo decorreu do seguinte modo; em um béquer foi adicionado 0,3123 g (1 mmol, MM = 312,32 g mol⁻¹) do ligante Hbpa-NO₂-CN e 20 mL de acetonitrila. Em outro béquer, foi adicionado 0,1996 g (1 mmol, MM = 199,65 g mol⁻¹) de acetato de cobre(II) monohidratado (Cu(OAc)₂·H₂O) e solubilizados em 10 mL de água deionizada. À medida que a solução do metal era adicionada, a solução do ligante que inicialmente era amarela tonou-se verde escura. Após completa adição, deixou-se reagir por alguns minutos e em seguida a solução foi filtrada e o solvente evaporado a temperatura ambiente. Foram obtidos 0,4065 g de cristais verdes escuros (com rendimento aproximado de 90 % em relação ao ligante) que foram possíveis de ter sua estrutura cristalina resolvida por difração de raios X. Fórmula Molecular C₁₈H₂₀CuN₄O₆, massa molecular 451,92 g mol⁻¹.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterizações do Hbpa-NO₂

5.1.1 Ponto de fusão

O ponto de fusão foi determinado em triplicata obtendo-se o valor entre 158 – 161 °C. Quando comparado com a literatura o mesmo encontra-se dentro da faixa indicando bom resultado.³⁶

5.1.2 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho – IV

O Hbpa-NO₂ apresenta um espectro vibracional da região do infravermelho com bandas características de seus grupos funcionais. A Figura 2 e a Tabela 1 abaixo mostram as principais bandas atribuídas, referentes aos estiramentos e deformações angulares das ligações C=C, C-O e C-H alifáticos e aromáticos. Além disto, possuem ainda os estiramentos referentes às ligações N-O do grupo nitro.

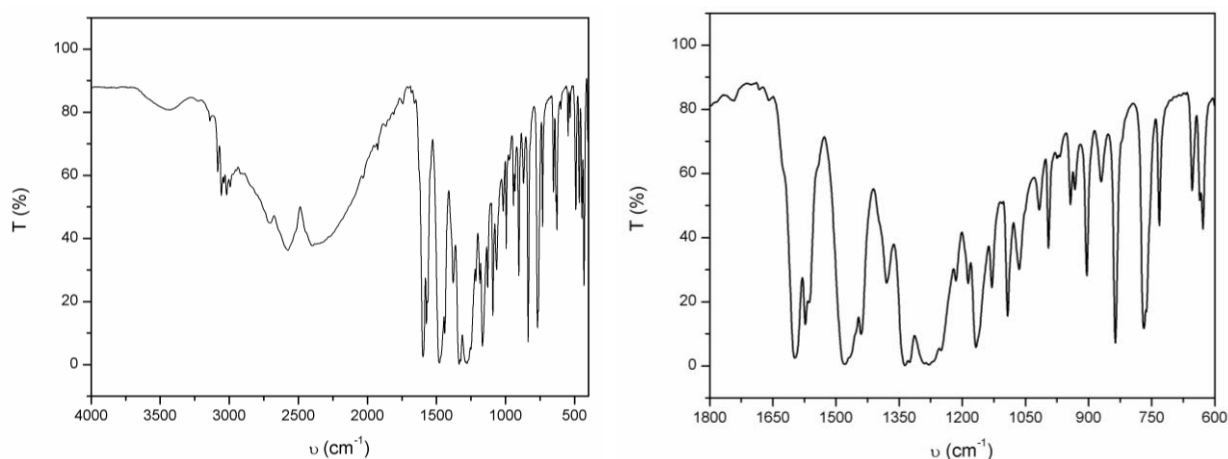


Figura 2. Espectro vibracional da região do infravermelho do Hbpa-NO₂.

Tabela 1. Atribuições das principais bandas no infravermelho para o Hbpa-NO₂.^{36,39,40}

Banda	Atribuições (cm⁻¹)
ν (O-H)	3436
ν (C-H _{ar} e C-H _{alif})	3094-2970
ν (Ar-NO ₂)	1598,1339
δ (O-H)	1380
ν (C-O)	1277
δ (C-H _{ar})	763

Quando comparado com o sintetizado por PERALTA³⁶, as bandas principais para o Hbpa-NO₂, tanto em número de onda e intensidade relativa referente a cada banda apresentaram valores similares. A região por volta de 3000 cm⁻¹ é uma região associada aos estiramentos simétricos e assimétricos dos átomos de hidrogênio ligados a oxigênio, carbono e nitrogênio. Foram associados os estiramentos das ligações entre carbono e hidrogênio, presentes nos anéis e nos cadeia alifática por volta de 3000 cm⁻¹. O estiramento O-H do grupo fenol foi observado acima de 3400 cm⁻¹ de forma alargada. Foram atribuídas as bandas referentes aos estiramentos da ligação N-O do grupo nitro ligada ao anel aromático, na região de 1598 cm⁻¹ e também na região de 1339 cm⁻¹. O estiramento da ligação C-O do fenol foi atribuído em 1277 cm⁻¹. As deformações angulares da ligação O-H na região de 1380 cm⁻¹ e a deformação angular dos átomos de hidrogênios aromáticos em 763 cm⁻¹ foram também atribuídas, sendo assim compostas as principais atribuições para o Hbpa-NO₂.

5.1.3 Ressonância magnética nuclear RMN ¹H e RMN ¹³C do Hbpa-NO₂

O Hbpa-NO₂ foi caracterizado por ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono. A Figura 3 mostra o espectro e a Tabela 2 mostra os valores referentes ao deslocamento químico (δ_H em ppm), o número de átomos de hidrogênio e a multiplicidade de cada sinal. A Figura 4 e a Tabela 3 mostram os espectros e os valores referentes ao deslocamento químico (δ_C em ppm) dos átomos de carbono respectivamente. O sinal pouco acima de 5,27 ppm pode ser atribuído ao hidrogênio ligado ao nitrogênio amínico.

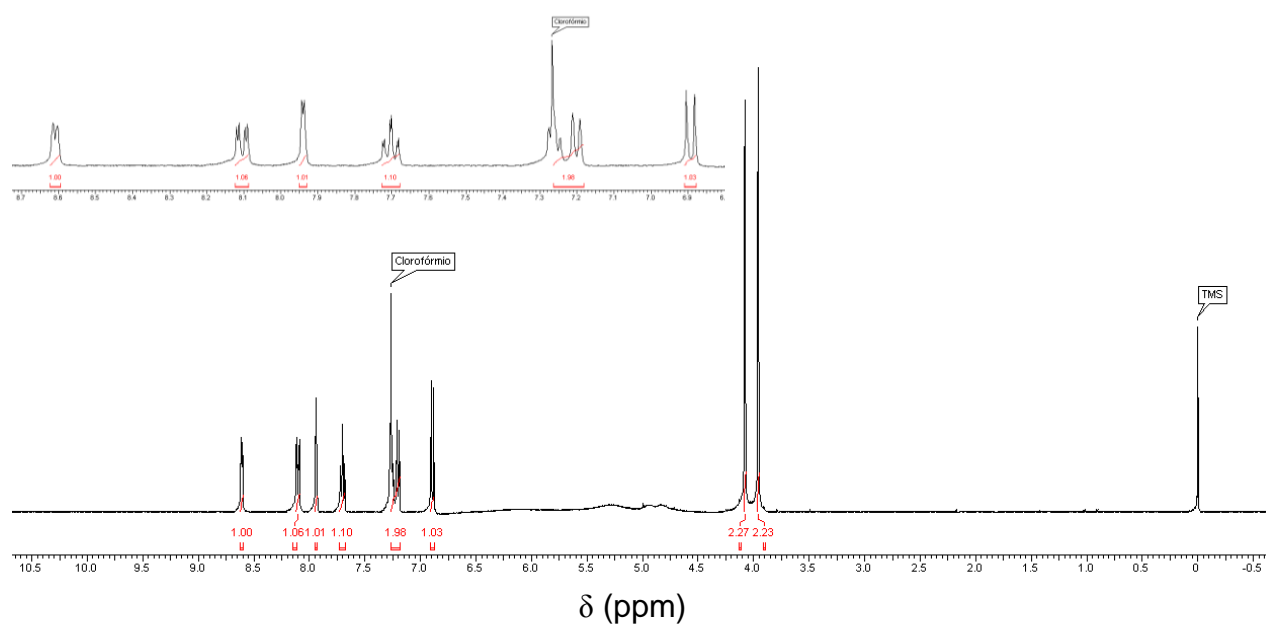


Figura 3. Espectro de RMN ^1H do Hbpa- NO_2 em CDCl_3 .

Tabela 2. Deslocamentos químicos de hidrogênio em ppm para o Hbpa- NO_2 (RMN ^1H 200 MHz).^{36,39,40}

Atribuição	δ_{H} (ppm)	Multiplicidade	Integral
a	3,96	Singlete	2
b	4,08	Singlete	2
c	6,88-6,91	Dubleto	1
d	7,19-7,25	Triplete	2
e	7,68-7,72	Duplo Triplete	1
f	7,94	Singlete	1
g	8,09-8,12	Duplo dubleto	1
h	8,61	Dubleto	1

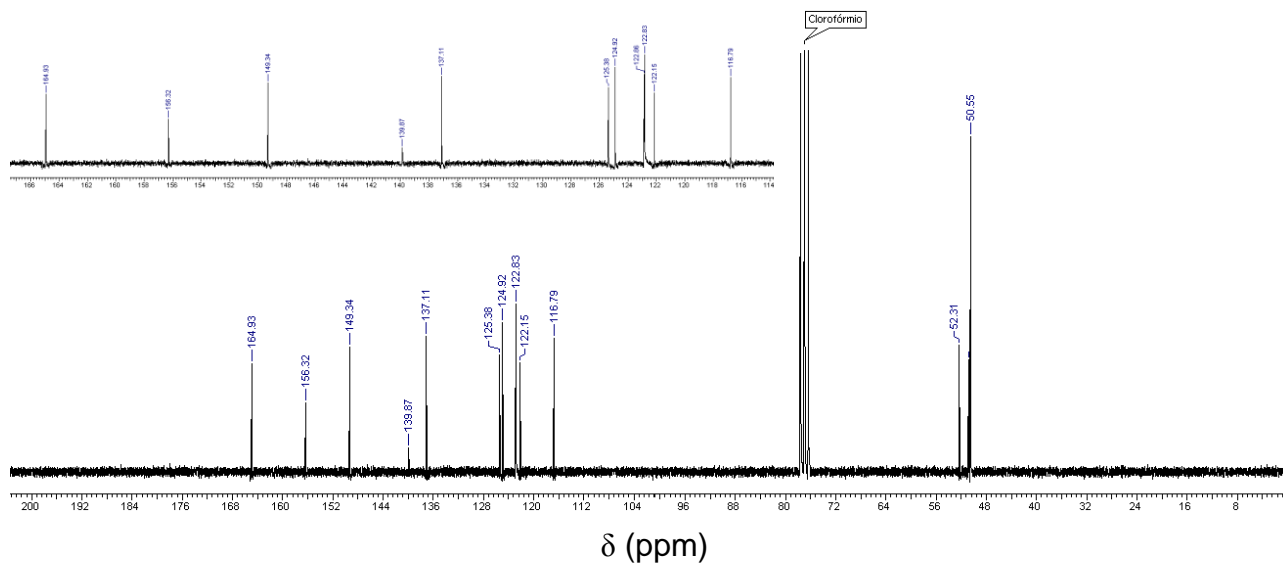


Figura 4. Espectro de RMN ^{13}C do Hbpa- NO_2 em CDCl_3 .

Tabela 3. Deslocamentos químicos, em ppm, para o Hbpa- NO_2 (RMN ^{13}C 400 MHz).^{38,39}

Atribuição	δ_c (ppm)
a	50,6
b	52,3
c	116,8
d	122,1
e	122,8
f	124,9
g	125,4
h	137,1
i	139,9
j	149,3
k	156,3
l	164,9

Para o espectro de ressonância magnética nuclear de carbono são esperados 13 sinais, referentes aos 13 átomos de carbono contidos na estrutura. No entanto o sinal atribuído para os carbonos “e” possuem deslocamentos químicos muito próximos (122,83 e 122,86 ppm) o que acabam por serem indicados apenas por um sinal, conforme a Tabela 3. Os sinais referentes a ambos os espectros de ressonância magnética nuclear, hidrogênio e carbono, indicam a formação do Hbpa- NO_2 . Os deslocamentos químicos bem como sua multiplicidade e integral

estão de acordo com sua estrutura, indicando que o mesmo pode ser utilizado na síntese do ligante final.³⁶

5.2 Caracterizações do ligante Hbpa-NO₂-CN

5.2.1 Ponto de fusão

Foram obtidos cristais amarelos do ligante, que após ser macerado tornou-se um pó fino de coloração amarelo claro. Foi possível então determinar o seu ponto de fusão, que em triplicata obteve-se o valores entre 123 – 126 °C. Não houve sinais de decomposição, escurecimento ou quaisquer fenômenos similares durante a análise do ligante.

5.2.2 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho – IV

Quando comparadas as estruturas entre o ligante e Hbpa-NO₂ percebe-se que variações vibracionais na região do infravermelho devem ocorrer em função da modificação estrutural entre os mesmos. A adição de um grupo contendo duas unidades de metileno e uma nitrila ao nitrogênio alifático do Hbpa-NO₂ afeta a posição dos sinais no espectro. A Figura 5 e a Tabela 4 abaixo mostram as principais bandas atribuídas, referentes aos estiramentos e deformações angulares das ligações C=C, C-O e C-H alifáticos e aromáticos, assim como na etapa anterior, porém agora com a presença do grupo nitrila.

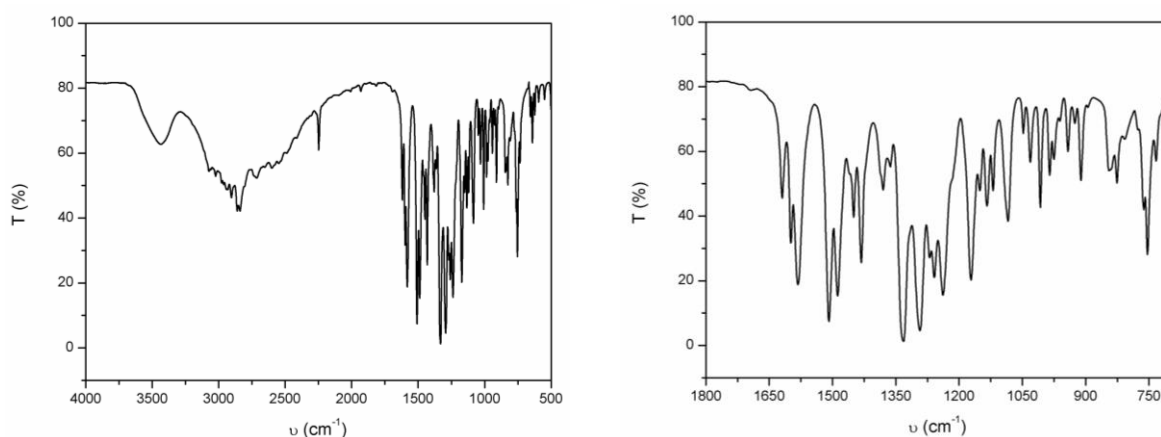


Figura 5. Espectro vibracional da região do infravermelho do ligante Hbpa-NO₂-CN.

Tabela 4. Atribuições das principais bandas no infravermelho para o ligante Hbpa-NO₂-CN.^{39,40}

Banda	Atribuições (cm⁻¹)
ν (O-H)	3443
ν (C-H _{ar} e C-H _{alif})	3073-2844
ν (C \equiv N)	2247
ν (Ar-NO ₂)	1509,1333
δ (O-H)	1238
ν (C-O)	1168
δ (C-H _{ar})	751

Quando comparados as Tabelas 1 e 4 nota-se que há a presença de quase as mesmas bandas para ambos, por apresentarem estruturas similares. A presença do estiramento C \equiv N bem característico por volta de 2247 cm⁻¹ para o ligante, e deslocamentos das bandas que aparecem em ambos os espectros evidenciam a formação do ligante final. A região por volta de 3400 cm⁻¹ possui uma difícil identificação devido à umidade do ar ou presença de água na amostra ou na matriz de KBr. As bandas do ligante tiveram deslocamentos para regiões de menor frequência, indicando a formação do ligante quando comparado ao Hbpa-NO₂.³⁹

5.2.3 Ressonância magnética nuclear de Hidrogênio e Carbono do Hbpa-NO₂-CN

O ligante foi caracterizado por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ¹H) e carbono (RMN ¹³C). Os espectros mostram os sinais e deslocamentos dos hidrogênios bem resolvidos assim como a integração dos mesmos. Por ser uma síntese de um ligante em que não há outras etapas para separação ou purificação, como extração ou coluna cromatográfica, os resultados obtidos para o ligante se mostram bastante eficientes, visto o seu elevado rendimento. O espectro não apresenta sinais de solventes, reagentes de partida ou outras impurezas, indicando assim uma pureza adequada para a síntese do complexo. A Figura 6 e Tabela 5 indicam o espectro e as atribuições referentes aos hidrogênios presentes em sua estrutura respectivamente.

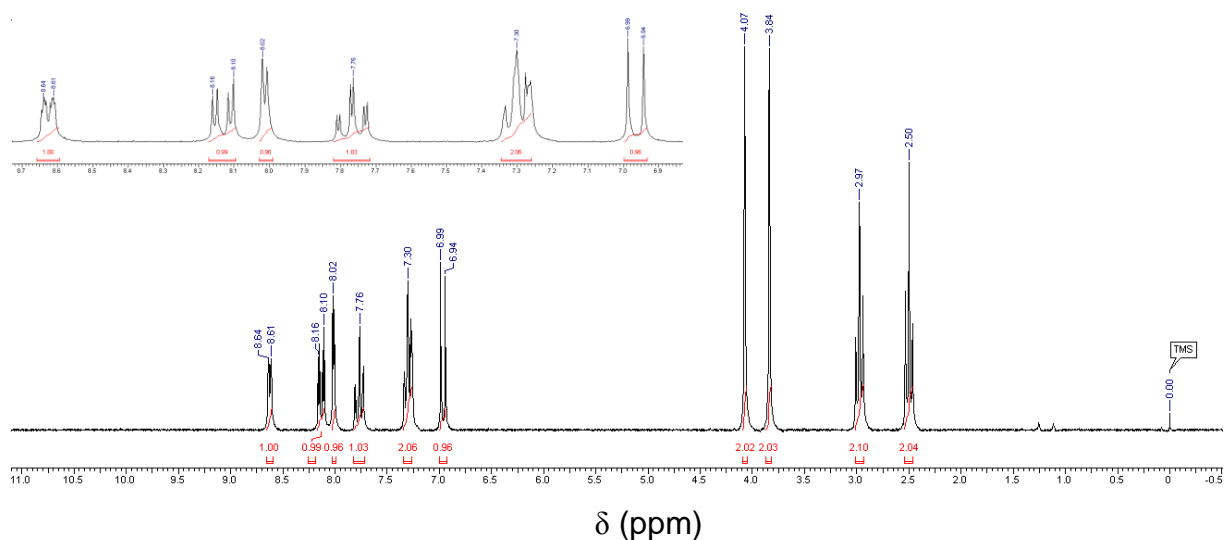
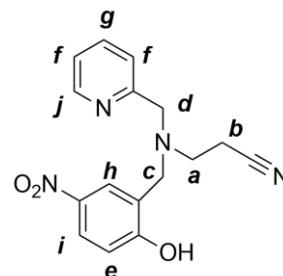


Figura 6. Espectro de RMN ^1H do Hbpa- $\text{NO}_2\text{-CN}$ em CDCl_3 .

Tabela 5. Deslocamentos químicos, em ppm, para o ligante Hbpa- $\text{NO}_2\text{-CN}$ (RMN ^1H 200 MHz).^{38,39}

Atribuição	δ_{H} (ppm)	Multiplicidade	Integral
a	2,50	Tripleto	2
b	2,97	Tripleto	2
c	3,84	Singlete	2
d	4,07	Singlete	2
e	6,94-6,99	Dubleto	1
f	7,30	Tripleto	2
g	7,76	Duplo Tripleto	1
h	8,01	Singlete	1
i	8,10-8,16	Duplo dubleto	1
j	8,61-8,64	Dubleto	1



Por sua vez a Figura 7 e a Tabela 6 mostram os valores referentes ao deslocamento químico (δ_{C} em ppm), e ao número de átomos de carbono. Alguns átomos de carbono apresentam sinais muito próximos, o qual foi ampliado uma região de seu espectro para visualização de todos os 16 sinais, referentes aos 16 átomos de carbono presentes na estrutura do ligante.

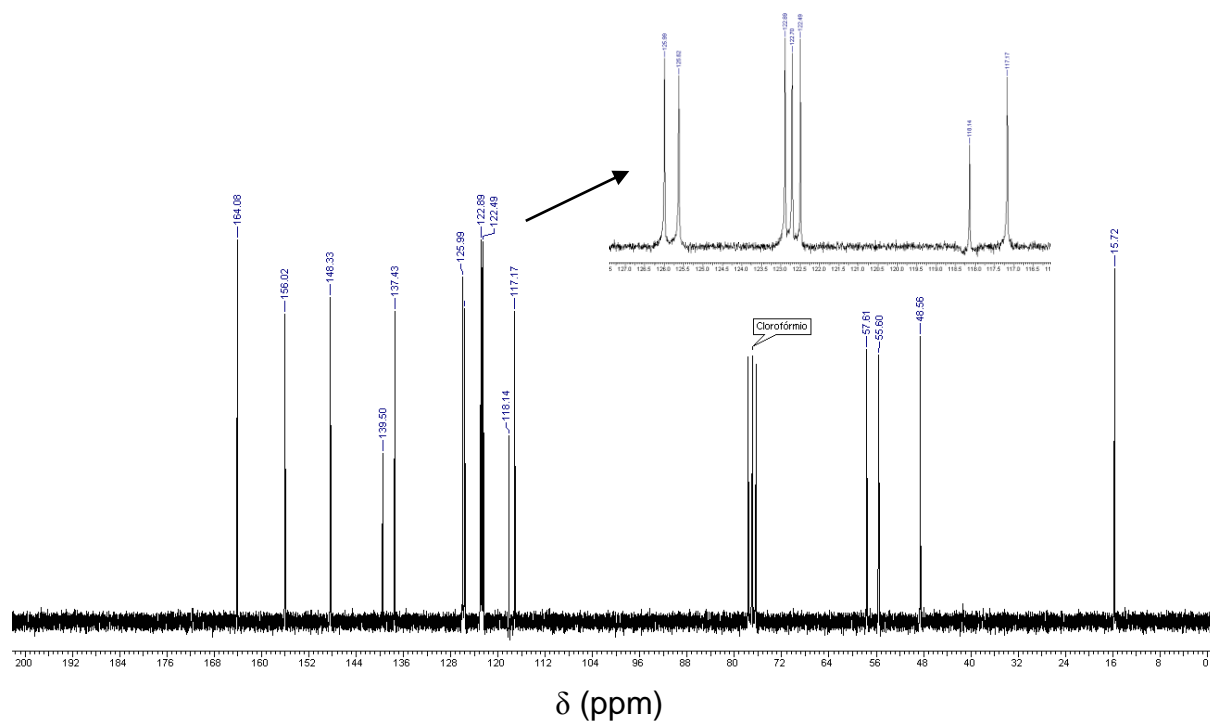
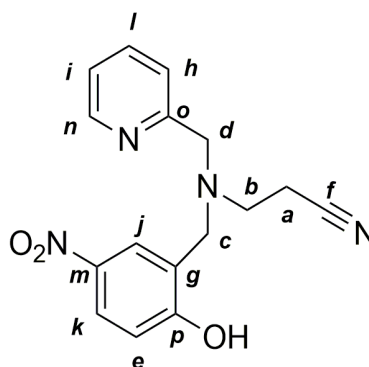


Figura 7. Espectro de RMN ^{13}C do ligante Hbpa- NO_2 -CN em CDCl_3 .

Tabela 6. Deslocamentos químicos, em δ_c ppm, para o ligante Hbpa- NO_2 -CN (RMN ^{13}C 400 MHz).^{38,39}

Atribuição	δ_c (ppm)
a	15,7
b	48,6
c	55,6
d	57,6
e	117,2
f	118,1
g	122,5
h	122,7
i	122,9
j	125,6
k	126,0
l	137,4
m	139,5
n	148,3
o	156,0
p	164,1



5.2.4 Espectrometria de massas

O espectro de massas do ligante junto com a sua distribuição isotópica é apresentado na Figura 8 abaixo. O ligante foi solubilizado em acetonitrila e então feita sua análise.

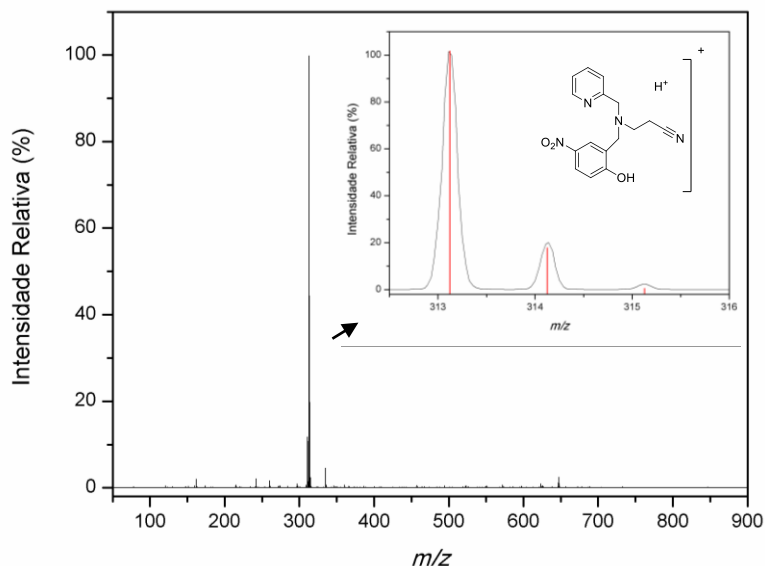


Figura 8. Espectro de massas ESI-MS do ligante em acetonitrila. Simulação das espécies em m/z 313,32(1+) $[Hbpa-NO_2-CN+H]^+$. Em vermelho a distribuição isotópica teórica e em preto o dado experimental.

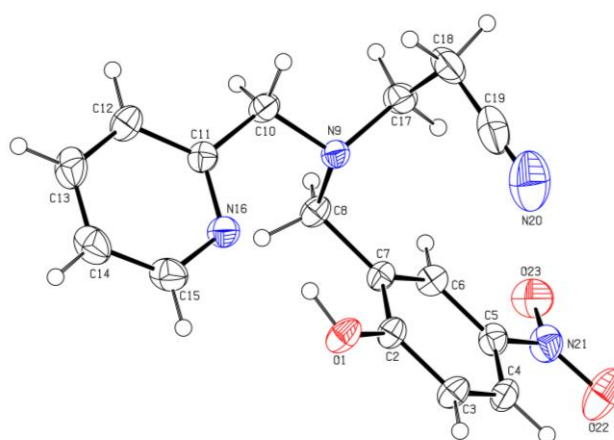
Conforme a Figura 8, o ligante apresenta-se na sua forma protonada para a leitura da análise. O mesmo não mostra a presença de fragmentações significativas. A distribuição isotópica teórica é condizente com o perfil mostrado experimentalmente, confirmando a presença do ligante.

5.2.5 Difratometria de raios X

Outra análise importante é a difratometria de raios X. Foi possível obter cristais amarelos do ligante, e que através da sua difração do monocristal foi obtida sua estrutura cristalina (Figura 9). Os dados cristalográficos são apresentados na Tabela 7 abaixo.

Tabela 7. Dados cristalográficos da estrutura do ligante Hbpa-NO₂-CN.

Temperatura	200(2) K
Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	P 21/n
a	15.8913(4) Å
b	11.7030(3) Å
c	18.4986(5) Å
α	90°
β	115.0680(10)°
γ	90°
Volume, Å ³	3116.24(14)

**Figura 9.** Representação da estrutura do ligante Hbpa-NO₂-CN obtida por difração de raios X.

O ligante apresenta um sistema cristalino do tipo monoclínico, o que representa uma cela unitária com dois ângulos iguais a 90° e o terceiro ângulo maior que 90°. Apresentou 8 unidades em cada cela unitária. Com base em todas as análises executadas, o ligante apresentou uma pureza adequada para a síntese de complexos, e assim se procedeu para a síntese do complexo de cobre(II).

5.3 Caracterização do complexo [Cu(bpa-NO₂-CN)(OAc)(H₂O)]

5.3.1 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho – IV

A espectroscopia vibracional na região do infravermelho permite de modo inicial a verificação da formação ou não de um complexo. A variação da intensidade e frequência das bandas, bem com a presença e ausência de algumas delas, reflete

no comportamento de uma estrutura que pode apresentar a formação de um complexo. Comparando os dados entre o complexo e o ligante tem-se diferentes atribuições e frequências que podem ser vistas na Tabela 8 e Figura 10.

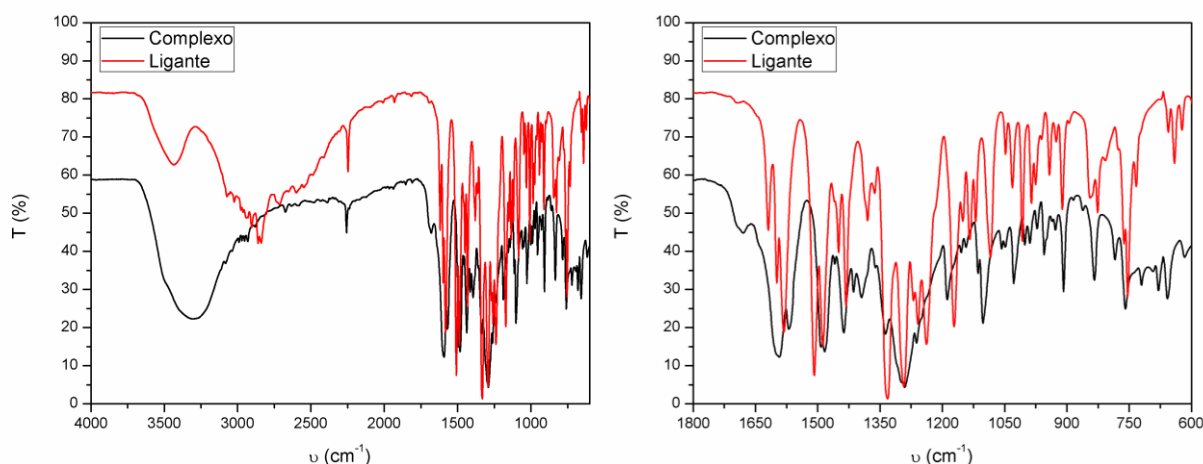


Figura 10. Sobreposição dos espectros de infravermelho, em pastilha de KBr. Em preto o espectro do complexo e em vermelho o espectro do ligante.

Tabela 8. Principais bandas e atribuições dos espectros de infravermelho para o ligante e o complexo.^{39,40}

Banda	Atribuições (cm ⁻¹) complexo	Atribuições (cm ⁻¹) ligante
ν (O-H)	3300	3443
ν (C-H _{ar} e C-H _{alif})	3078-2926	3073-2844
ν (C \equiv N)	2247	2247
ν (C=O)	1678	-
ν (Ar-NO ₂)	1483,1337	1509,1333
δ (O-H)	-	1238
ν (C-O)	1190	1168
δ (C-H _{ar})	759	751

As frequências das bandas entre o ligante e o complexo possuem variações de intensidades relativas. A grande mudança é ausência do estiramento angular fora do plano da ligação O-H_{fenol} o que indica a coordenação do fenol ao átomo de cobre na espécie não protonada, como fenolato. A região acima de 3200 cm⁻¹ apresenta uma banda bastante alargada, que pode estar associada à umidade, desde a matriz de KBr até mesmo a uma molécula de água coordenada na estrutura do complexo. Outra mudança é um sinal por volta de 1678 cm⁻¹, a qual a intensidade relativa sofre

variação quando comparado ao ligante, que pode estar associado à carbonila presente no acetato que está coordenado ao metal. Acetatos podem estar coordenados de três modos: na forma monodentada, na forma bidentada ou como ponte. O íon acetato apresenta valores em 1597 cm^{-1} quando na forma livre e quando associado a metais seu valor aumenta chegando até 1660 cm^{-1} para o átomo de cobre(II). Portanto o valor de 1678 cm^{-1} para este complexo pode estar relacionado ao acetato na forma monodentado. Não houve mudança tanto na intensidade relativa quanto na frequência da banda referente à nitrila em 2247 cm^{-1} indicando que a mesma apresenta-se na forma livre e não coordenada. De modo geral, as mudanças sugerem que o complexo foi formado devido às mudanças causadas no espectro quando comparado somente com o ligante.⁴⁰

5.3.2 Espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta-visível – UV-Vis

O complexo de cobre(II) foi estudado via espectroscopia eletrônica utilizando-se diferentes solventes para que fosse possível obter informações sobre sua estrutura no estado sólido e em solução. O espectro eletrônico em todos os três solventes, água, diclorometano e acetonitrila apresentaram bandas na região entre 650-700 nm, típico de uma banda *d-d* do íon cobre(II), conforme é possível visualizar na Figura 11. Em todos os casos, houve um valor no coeficiente de absortividade molar, entre $120\text{ a }200\text{ L mol}^{-1}\text{ cm}^{-1}$, conforme a Tabela 9. Por ser uma transição que é proibida por Simetria, os valores baixos de absortividade molar (ϵ) são esperados na região de 600 a 700 nm.

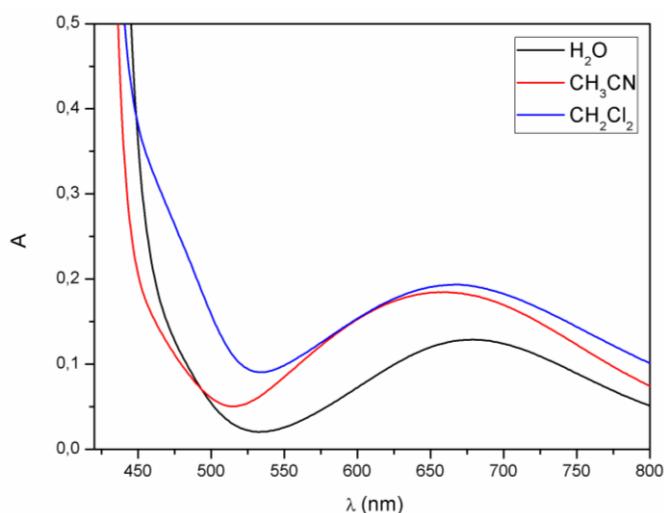


Figura 11. Espectro eletrônico do complexo, na região referente a transição eletrônica interna (*d-d*) em diferentes solventes. Para todos os espectros a concentração da solução de complexo foi de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

Tabela 9. Atribuição de bandas do complexo referente à banda de campo ligante em diferentes solventes.

Solvente	λ (nm)	ϵ ($\text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)
H ₂ O	682	129
CH ₃ CN	659	184
CH ₂ Cl ₂	668	193

Em regiões de alta energia estão as bandas referentes às transições de transferência de carga entre metal e ligante ou vice-versa. A Figura 12 mostra uma banda intensa na região abaixo de 400 nm. Bandas próximas e acima de 400 nm indicam transferência de carga, seja do ligante para o metal ou do metal para o ligante. Abaixo de 400 nm, em geral, estão associadas às transferências intraligante. Esta banda aparece tanto no ligante quanto no complexo (em todos os solventes), sendo que esta banda pode ser então atribuída a transferência intraligante (anel aromático-NO₂). O alto valor de absorvidade molar, variando entre 11.000 a 16.000 $\text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ para as soluções contendo o complexo e ultrapassando os 20.000 $\text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ para a solução do ligante, conforme a Tabela 10, ajuda a confirmar a banda na região de 400 nm como sendo a intraligante. A estrutura apresenta uma ligação entre o metal cobre(II) e um fenolato, que poderia ter uma de suas bandas atribuída a esta transferência de carga. Em alguns casos a

transferência de carga fenolato \rightarrow Cu(II) pode apresentar-se como um ombro ou ser encoberta por outras bandas de maior intensidade em comprimento de onda próximo. Devido à alta intensidade desta banda, a banda de transferência de carga ligante-metal (TCLM), do fenolato para o íon cobre(II) deve estar encoberta. Complexos similares que contêm o Hbpa-NO₂ como parte da estrutura do ligante final descritos por PERALTA³⁶, apresenta comportamento similar, de maneira que a banda associada à transferência de carga fenolato para o íon cobre(II) apareceu como um ombro em complexos descritos por PERALTA³⁶, na região de 450 nm, encobertas pela transferência de carga intraligante.

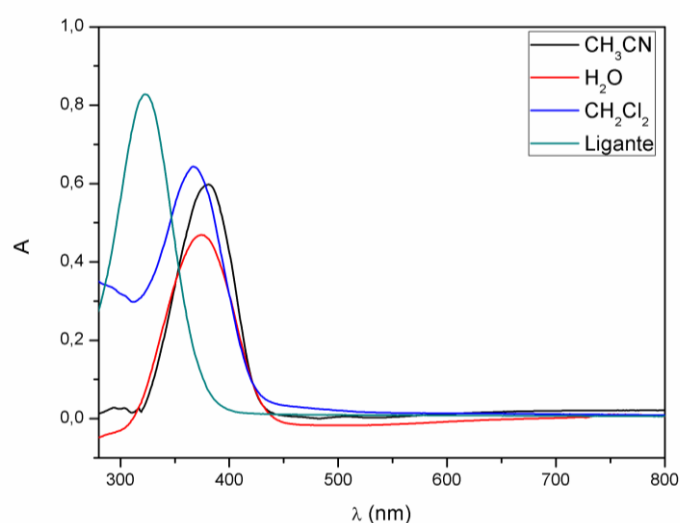


Figura 12. Espectro eletrônico do complexo, em diferentes solventes, e ligante na região referente à transferência de carga. Para todos os espectros a concentração da solução foi de $4,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

Tabela 10. Atribuição de bandas do complexo referente à banda de transferência de carga intraligante (anel aromático-NO₂) em diferentes solventes, e do ligante.

Solvente	λ (nm)	ϵ (L mol ⁻¹ cm ⁻¹)
Ligante	323	20.624
H ₂ O	375	11.720
CH ₃ CN	381	14.934
CH ₂ Cl ₂	366	15.027

No estado sólido, mostrado na Figura 13, o complexo apresenta uma banda alargada na região de 680 nm referente à transição interna *d-d* e outra banda na região acima de 400 nm. Por estar no estado sólido, o complexo não sofre interferência de solventes (solvatocromismo). A banda na região de maior energia pode ser atribuída a transferência intraligante que foi deslocada para comprimento de onda maior, pois o grupo nitrofenol apresenta-se na forma livre. Comparando os espectros, o comportamento tanto no estado sólido quanto em solução pouco varia, indicando que em solução a estrutura não deve sofrer grandes mudanças.

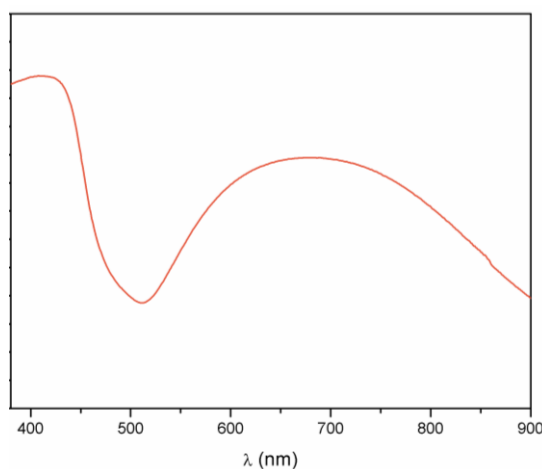


Figura 13. Espectro eletrônico UV-Vis no estado sólido do complexo de cobre(II), em pastilha da KBr, medida por refletância.

5.3.3 Condutividade molar

As medidas de condutividade molar para o complexo foram analisadas em duas soluções, sendo uma de acetonitrila e outra de DMF, ambas em concentração de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ a 25°C . Através dos valores obtidos foi possível determinar a relação entre o complexo e eletrólitos. A Tabela 11 mostra os valores encontrados, que através de dados da literatura chegou-se ao resultado de um complexo neutro.³⁵ Tendo a estrutura do complexo, as cargas positivas vindas do cobre(II) e as cargas negativas vindas do ligante na sua forma desprotonada através do fenolato, além de um acetato coordenado, chega-se numa estrutura neutra, uma vez que a molécula de água que também está coordenada é neutra. A análise em dois solventes foi

realizada para que fosse possível prever se haveria a possibilidade de coordenação de solvente ou a substituição de grupos coordenados ao metal pelos mesmos, como no caso do acetato por exemplo. De maneira que o uso de um solvente que evitasse esse problema, como no caso do DMF, mostraria este comportamento. Em ambos os casos o resultado de condutividade foi muito baixo, sendo o menor deles para o solvente DMF.

Tabela 11. Condutimetria do complexo de cobre(II).

Solvente	Λ_m ($\mu\text{S cm}^{-1}$)
CH ₃ CN	3,47
DMF	1,24

5.3.4 Espectrometria de massas

O complexo de cobre(II) foi solubilizado em acetonitrila grau MS e então realizado sua análise. O complexo apresentou dois picos principais, sendo o maior deles atribuído a espécie $[\text{Cu}(\text{Hbpa-NO}_2\text{-CN})(\text{OAc})(\text{H}_2\text{O})]^+$, ou seja, ao complexo na sua forma protonada. A presença de poucos picos indica que o complexo sofre pouca fragmentação e se apresenta numa forma estável, considerando pico do íon molecular como sendo referente ao complexo. A Figura 14 apresenta o seu espectro experimental e a sua distribuição isotópica para a razão m/z em 452,06(1+). O segundo pico de menor intensidade é referente ao ligante na sua forma protonada, em m/z 313,32(1+). Os picos menores são referentes a estruturas menos estáveis, perdendo moléculas de solvente e/ou rearranjos.

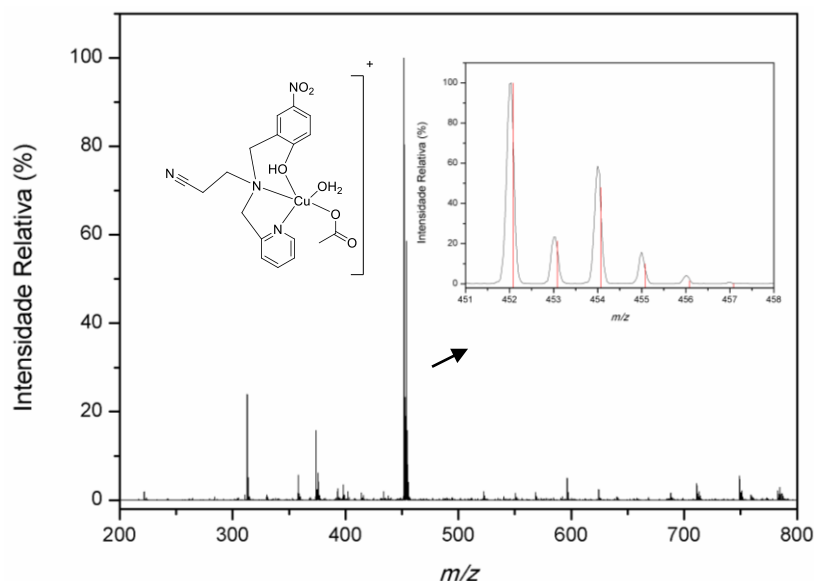


Figura 14. Espectro de massas ESI-MS do complexo em acetonitrila. Simulação das espécies m/z 452,06(1+) $[\text{Cu}(\text{Hbpa-NO}_2\text{-CN})(\text{OAc})(\text{H}_2\text{O})]^+$. Em vermelho a distribuição isotópica e em preto o dado experimental.

5.3.5 Eletroquímica

Como o complexo será testado como catalisador de reações redox é importante sua caracterização eletroquímica. As medidas eletroquímicas foram executadas através das técnicas de voltametria cíclica e voltametria de onda quadrada. Inicialmente foi preparada uma solução aquosa $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl que foi utilizada como eletrólito suporte. Este eletrólito de suporte visa eliminar os efeitos de migração e diminuir a resistência da solução. A partir desta solução foi preparada uma solução contendo o complexo de concentração igual a $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Os potenciais de redução foram lidos pelo uso do eletrodo de referência comercial Ag/AgCl (BASi), ($E_{1/2}$ vs ENH = 197 mV)³⁰. A Figura 15 mostra os voltamogramas cíclicos para o complexo de cobre em diferentes velocidades, enquanto que a Figura 16 mostra o voltamograma de onda quadrada.

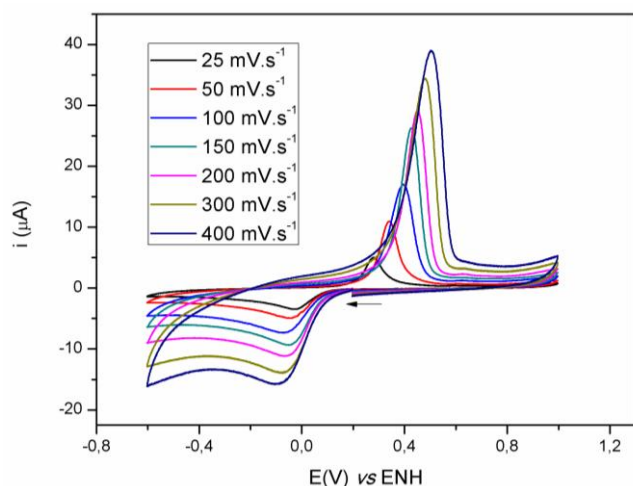


Figura 15. Voltamogramas cíclicos para o complexo de cobre(II), em meio aquoso com concentração de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Eletrodo de trabalho: Platina; Referência: Ag/AgCl; Auxiliar: Platina. Eletrólito de suporte: KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

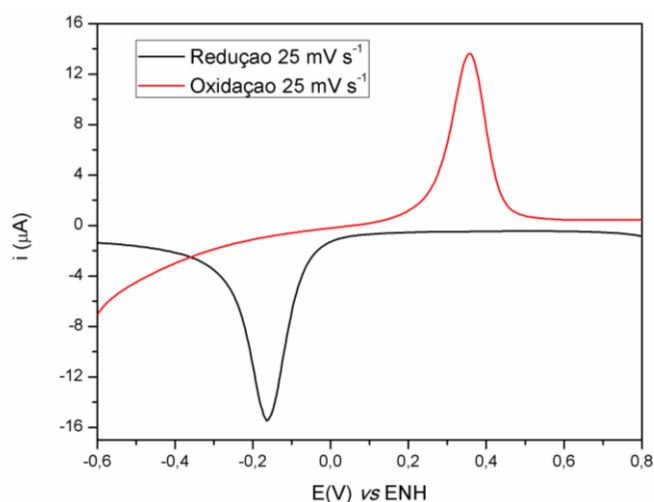


Figura 16. Voltamograma de onda quadrada para o complexo de cobre(II), em meio aquoso com concentração de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Eletrodo de trabalho: Platina; Referência: Ag/AgCl ($E_{1/2} \text{ vs ENH} = 197 \text{ mV}$)³⁰; Auxiliar: Platina. Eletrólito de suporte: KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Oxidação representada em vermelho e redução representada em preto. Pulso de 25 mV e frequência de 15 Hz.

Quando comparados os dois tipos de voltametrias pode-se observar que há uma similaridade no comportamento, podendo ser observado a onda de redução para o processo $\text{Cu}^{\text{II}} + e \rightleftharpoons \text{Cu}^{\text{I}}$ em -0,168 V vs ENH. Para a onda de oxidação em ambas voltametrias pode ser atribuída a deposição de Cu^0 na superfície do eletrodo, ou a formação de óxido de cobre(I) (menos comum pois o experimento é feito sob argônio), entre 0,25 a 0,51 V. Considerando que os processos não são correlacionados entre si, sendo um referente ao processo de redução do metal e o outro ao depósito de cobre sobre a superfície do eletrodo, tem-se assim um processo irreversível para a redução do centro de cobre(II) no complexo. Comparando os perfis da eletroquímica com os complexos descritos por CHAVES¹⁶, o valor para o potencial obtido deste complexo foi menor. Isso ocorre devido ao fato de que os grupos substituintes à posição *para* em relação ao fenol no ligante são de caráter doador o que aumenta a densidade eletrônica sobre o metal, dificultando assim sua redução gerando potenciais de redução mais negativos. Quando o grupo substituinte é um grupo nitro, o retirador de elétrons diminui a densidade eletrônica sobre o metal o que facilita sua redução, gerando um potencial menos negativo quando comparado com os sintetizados por CHAVES.^{16,42}

5.3.6 Difratometria de raios X

Foram obtidos monocristais verdes adequados para resolução de estrutura de raios X por monocristal. O complexo revela uma estrutura em que o metal cobre(II) se encontra pentacoordenado, sendo que um acetato está na forma monodentado, uma água e mais três átomos do ligante compõe sua esfera de coordenação. As três ligações vindas do ligante são de dois átomos de nitrogênio, um da piridina e outro de um nitrogênio amínico e um oxigênio do fenol, na forma de fenolato conforme a Figura 17. A Tabela 12 mostra os dados cristalográficos para o complexo de cobre(II).

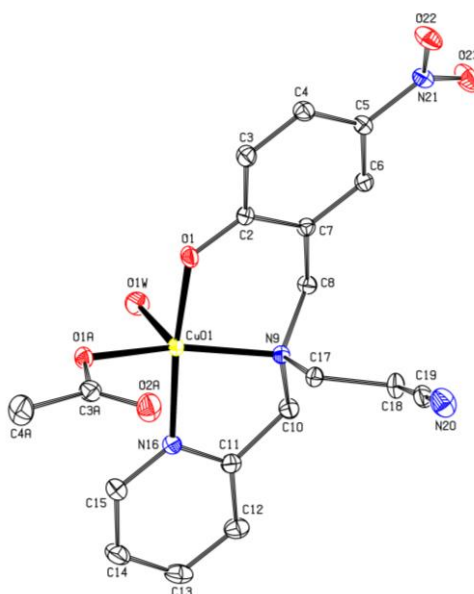


Figura 17. Estrutura do complexo de cobre(II) através de difração de raios X.

Tabela 12. Dados cristalográficos da estrutura do complexo de cobre(II).

Temperatura	200(2) K
Sistema cristalino	Triclínico
Grupo espacial	P-1
a	7.4980(3) Å
b	8.6081(3) Å
c	17.4017(6) Å
α	75.9880(10)°.
β	79.9070(10)°.
γ	72.1530(10)°.
Volume, Å ³	1031.08(07)

A Tabela 13 mostra os principais ângulos e comprimentos de ligação do complexo de cobre(II). A estrutura geométrica na qual os ligantes encontram-se de coordenados ao átomo de cobre(II) foi calculada utilizando o fator τ . Este é um fator estrutural aplicável a complexos pentacoordenados e representa o seu grau de trigonalidade da geometria. O valor de $\tau = 0$ (zero) mostra uma geometria de pirâmide de base quadrada perfeita. Quando o valor de $\tau = 1$ (um) representa uma geometria trigonal bipiramidal perfeita. Através do cálculo do fator τ sendo: $\tau = (\beta - \alpha) / 60$, onde β representa o maior ângulo e α o segundo maior ângulo da esfera de

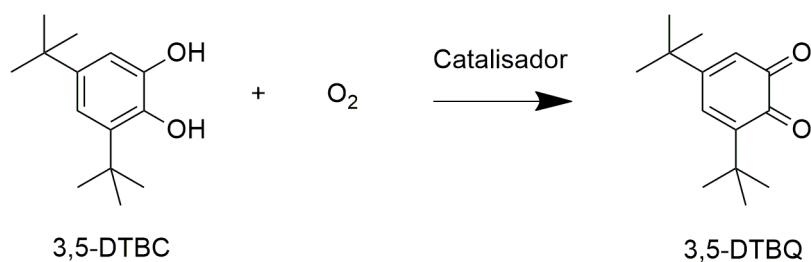
coordenação, o valor para o complexo de cobre(II) foi de $\tau = 0,06$ (conforme dados cristalográficos da Tabela 12). O valor mostra que o complexo encontra-se na forma piramidal de base quadrada. Conforme a Tabela 13, considerando as distâncias de ligação entre os átomos coordenados ao centro de cobre, determina-se a posição de cada átomo coordenado. Os átomos de nitrogênio amínico (N9) e piridínico (N16), mais os átomos de oxigênio do acetato monodentado (O1A) e do fenolato (O1), apresentam distâncias de ligação em relação ao átomo central de cobre(II) na ordem de 2Å. Neste caso, esses quatro átomos constituem o plano basal da geometria do complexo. O átomo de oxigênio da molécula de água (O1W) está a quase 2,3Å do átomo de cobre(II) fazendo com que esta encontre-se na posição axial. Os ângulos formados em torno do átomo de cobre(II) tendem para os ângulos de 90° e 180° conforme o esperado para uma geometria pirâmide de base quadrada.⁴³

Tabela 13. Principais comprimentos (Å) e ângulos de ligação (°) para o complexo.

Cu(01)-O(1)	1.9326(8)
Cu(01)-O(1A)	1.9583(7)
Cu(01)-N(16)	2.0169(9)
Cu(01)-N(9)	2.0439(8)
Cu(01)-O(1W)	2.2970(8)
O(1)-Cu(01)-O(1A)	90.11(3)
O(1)-Cu(01)-N(16)	173.24(3)
O(1A)-Cu(01)-N(16)	93.20(3)
O(1)-Cu(01)-N(9)	92.46(3)
O(1A)-Cu(01)-N(9)	163.03(3)
N(16)-Cu(01)-N(9)	82.68(3)
O(1)-Cu(01)-O(1W)	97.63(3)
O(1A)-Cu(01)-O(1W)	99.11(3)
N(16)-Cu(01)-O(1W)	87.68(3)
N(9)-Cu(01)-O(1W)	97.17(3)

5.3.7 Cinética de oxidação

O complexo apresenta dois ligantes exógenos lábeis, água e acetato. Esta característica indica que o mesmo pode ser testado frente a atividades de oxidação. Os experimentos de cinética de oxidação foram efetuados para que pudesse ser investigada a capacidade do complexo em oxidar substratos modelos, como no caso do 3,5-di-*tert*-butilcatecol (3,5-DTBC). A sua oxidação leva a formação do produto 3,5-di-*tert*-butilquinona (3,5-DTBQ) que apresenta uma banda característica em 400 nm com coeficiente de absorção de $1645 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.¹⁶ Considerando o Esquema 12 abaixo para a oxidação do 3,5-DTBC, este substrato foi o modelo escolhido pois além de apresentar um baixo potencial redox, facilitando assim a formação da 3,5-DTBQ, este substrato apresenta em sua estrutura grupos substituintes no anel (*tert*-butil) volumosos, impedindo que a reação para abertura do anel após a oxidação ocorra.



Esquema 12. Oxidação do substrato 3,5-DTBC na presença de O₂.

Inicialmente foi estudado e investigado o pH ao qual haveria a maior velocidade de oxidação, e após esta determinação, foram realizados estudos do efeito da concentração do substrato, possibilitando a determinação das demais constantes cinéticas. O efeito de pH procedeu afim de se determinar o pH ótimo para atividade da reação. Esta atividade de oxidação ocorreu em uma faixa de pH entre 4,0 a 10,0 onde pode-se determinar em qual região a velocidade da reação é mais dependente do pH e como sua velocidade é aumentada ou diminuída. Conforme a Figura 18, em valores de pH baixos (entre 4,0 e 6,5) não houve mudanças na velocidade, as quais foram baixas mostrando pouca atividade. Entre os valores mais altos de pH houve um salto na velocidade, atingindo seu máximo em pH 8,5; sendo

este considerado então o pH ótimo para a reação de oxidação do substrato 3,5-di-*tert*-butilcatecol.

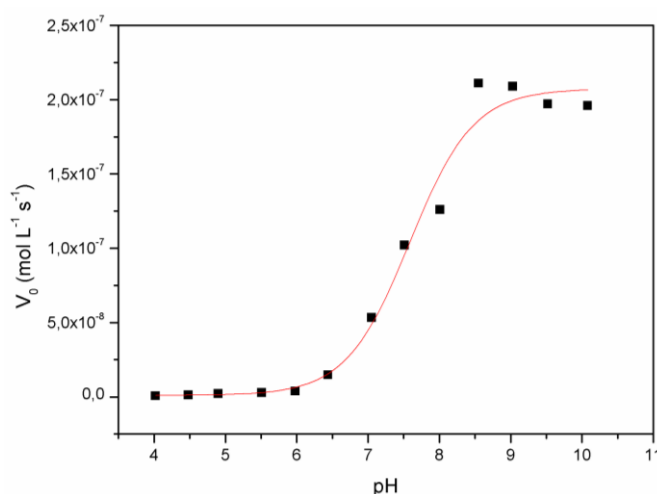


Figura 18. Dependência da velocidade de reação de oxidação do 3,5-di-*tert*-butilcatecol com o pH para o complexo de cobre(II). Condições: [complexo] = $3,13 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹; [3,5-DTBC] = $2,5 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹; [Tampões] = $3,33 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹ (pH 4,0 – 6,5 MES; pH 7,0 – 10,0 TRIS; soluções de metanol:água a 25°C).

O ponto de inflexão da curva forneceu o valor de pK_a cinético e pode ser atribuído a desprotonação do próprio substrato 3,5 – DTBC cujo valor obtido foi de 7,58.¹⁴ Após determinação do pH ótimo, foi estudado o efeito nas velocidades iniciais com a variação da concentração do substrato, visando a determinação dos parâmetros cinéticos da reação de oxidação do 3,5-DTBC catalisada pelo complexo de cobre(II). A figura 19 mostra que no pH ótimo de 8,5 a oxidação do substrato leva a formação do produto 3,5-DTBQ que apresenta uma banda característica em 400 nm.

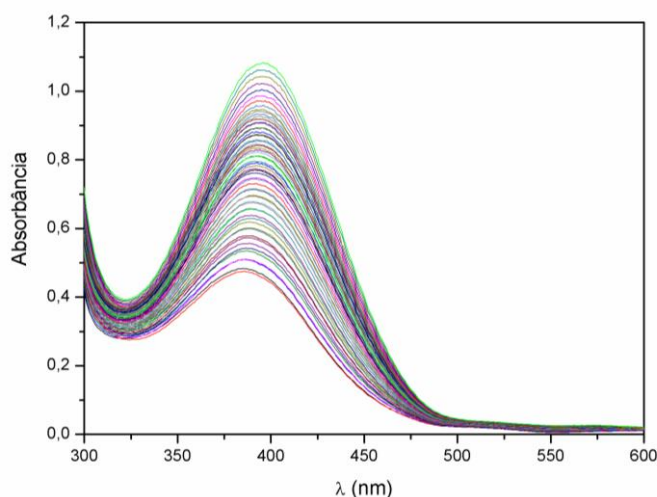


Figura 19. Gráfico referente à banda de absorção máxima da formação da quinona em 400 nm.

A Figura 20 mostra o perfil da curva obtido conforme o aumento da concentração de substrato. A curva tende a um perfil de saturação e esta dependência da velocidade em relação a concentração do substrato sugere uma reação com a formação de um intermediário complexo-substrato, de maneira que o modelo de Michaelis-Menten pôde ser aplicado. A Tabela 14 mostra os valores para os parâmetros cinéticos obtidos.

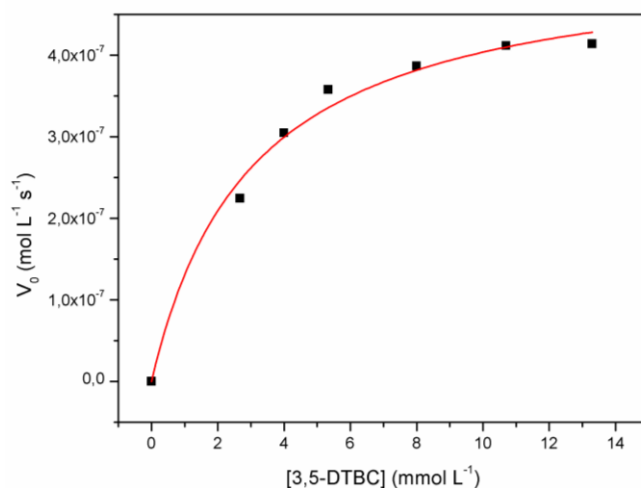


Figura 20. Dependência da velocidade de reação do 3,5 – DTBC com a concentração do substrato para o complexo. Condições: $[\text{complexo}] = 3,33 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[3,5\text{-DTBC}] = 1,33 - 20 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{Tampão}] = 3,33 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (TRIS, pH 8,5) em solução de metanol:água a 25°C.

Tabela 14. Parâmetros cinéticos para o complexo de cobre frente a cinética de oxidação.

	V_{\max} (mol L ⁻¹ s ⁻¹)	k_{cat} (s ⁻¹)	K_m (mol L ⁻¹)	K_{ass} (L mol ⁻¹)	$E = k_{\text{cat}}/K_m$ (L mol ⁻¹ s ⁻¹)
COMPLEXO	(5,25±0,19) x 10 ⁻⁷	(1,58±0,06) x 10 ⁻²	3,01±0,08 x 10 ⁻³	332,2±9,2	5,25±0,11
CHAVES ¹⁶	(9,99±0,15) x 10 ⁻⁷	(3,40±0,05) x 10 ⁻²	(4,56±0,75) x 10 ⁻³	225,4±37,0	7,63±1,15
PANDA ²⁶	5,98 x 10 ⁻⁷	1,60 x 10 ⁻³	2,70 x 10 ⁻³	370,4	0,59
CAMARGO ⁴⁴	-	1,63 x 10 ⁻²	3,50 x 10 ⁻³	285,7	4,90
OSÓRIO ⁴⁵	5,58 x 10 ⁻⁷	2,30 x 10 ⁻²	2,66 x 10 ⁻³	375,2	8,75

Comparando os valores obtidos com os contidos na Tabela 14 percebe-se que o complexo de cobre(II) mostrou ser ativo na catálise da reação de oxidação do 3,5-DTBC. Quando comparado com o complexo descrito por CHAVES¹⁶, percebe-se que apesar das estruturas dos ligantes e complexos serem similares os valores tornaram-se um pouco diferentes, podendo ser associado aos grupos substituintes do anel fenólico assim como o substituinte do nitrogênio amínico. Quando comparado com complexos descritos por PANDA²⁶ e CAMARGO⁴⁴, estes apresentam valores de atividade catalítica superiores, ao passo que quando comparado com modelos binucleares descritos por OSÓRIO⁴⁵, fica abaixo. Este resultado pode ser explicado pelo fato de complexos binucleares tenderem a ter maior atividade quando comparado a complexos mononucleares, por conta do suposto mecanismo de ativação, em que o substrato liga-se a dois centros metálicos de cobre. A atividade está relacionada com dois fatores. O valor do potencial e a diferença entre os valores de potenciais entre dois centros de cobre bem como a distância aproximada de 3Å entre dois centros de cobre. Considerando que o mecanismo mais aceito seja para complexos binucleares, a diferença no potencial quanto menor for entre os átomos de cobre mais rápido será a transferência de elétrons. A aproximação de duas moléculas do complexo frente ao substrato deve ocorrer em potenciais de redução próximos, fazendo com que seja rápida a

transferência de elétrons, contribuindo para que valores de K_{ass} sejam similares comparados com complexos binucleares.^{16,26,44,45}

O valor de K_m (constante de Michaelis) corresponde numericamente à concentração do substrato na qual a velocidade inicial da reação corresponde à metade da velocidade máxima. Valores pequenos de K_m refletem afinidade elevada da enzima pelo substrato, de maneira que esta atingirá a máxima eficiência em baixas concentrações de substrato. Valores grandes de K_m refletem baixa afinidade da enzima pelo substrato.

Outro fator importante é a constante catalítica (k_{cat}), que é conhecida como constante de reciclagem ou *turnover*. Representa o número de moléculas de substrato convertido em produto por segundo por molécula de enzima sob condições de saturação, ou seja, é o número máximo de moléculas convertidas em produto por segundo por cada sítio ativo.

Mas analisar somente valores de K_m e k_{cat} isoladamente pode levar a conclusões equivocadas a respeito da eficiência de uma enzima. Deste modo, tem-se que a constante de segunda ordem (E) pode ser relacionada à eficiência catalítica da enzima e com a sua afinidade pelo substrato. Este parâmetro cinético é o que melhor compara a eficiência catalítica de uma enzima, sendo descrito pela definição $E = k_{cat} / K_m$. Valores baixos de K_m indicam alta afinidade da enzima pelo substrato e altos valores de k_{cat} na conversão das moléculas do substrato em produto, ou seja, a alta eficiência catalítica é dada por alta afinidade e alta conversão a produto. Isso tudo mostra como cada constante não deve ser relacionada isoladamente, e sim de maneira interligada.

Comparando os valores obtidos para o complexo sintetizado com os demais descritos, conforme Tabela 14, temos que o valor obtido para o K_m foi um dos menores. Indica que há uma afinidade boa do complexo com o substrato, no entanto o valor de k_{cat} foi um dos mais baixos e isso indica a pouca conversão de substrato a produto pelo complexo. De certa forma, analisando conjuntamente ambas constantes, há um valor para a eficiência catalítica relativamente bom para um complexo de cobre(II) mononuclear para a oxidação de o-difenóis.

5.3.8 Eletroquímica associada ao substrato tetraclorocatecol

Na tentativa de compreender o modo como o substrato se liga ao centro metálico de cobre(II), adições equimolares de tetraclorocatecol foram efetuadas, verificando-se sua alteração no potencial redox. Como de interesse, e conforme analisado na Figura 21, as análises foram feitas no sentido da redução da espécie $\text{Cu}^{\text{II}} \rightarrow \text{Cu}^{\text{I}}$. Quando há apenas o complexo, em traço preto, apenas um processo é visualizado indicando o processo de redução do centro de cobre(II) para cobre(I). À medida que quantidades de tetraclorocatecol são adicionadas, até a proporção 1:1, em traço vermelho, percebe-se o surgimento de novos sinais. Portanto existe a indicação de que uma molécula de tetraclorocatecol liga-se a dois centros metálicos de cobre(II) formando uma ponte reduzindo um átomo de cobre(II) por vez, gerando dois sinais na região de -0,55V e -0,80V. Um terceiro sinal em -0,92V pode estar associado a um único átomo de cobre ligado aos dois átomos de oxigênio do substrato. A grande densidade eletrônica sobre o átomo de cobre dificulta sua redução, o que está de acordo com seu valor de potencial ser o mais negativo de todos. Os valores próximos de potenciais podem ter contribuído para um valor de K_{ass} de mesma ordem quando comparado a um sistema binuclear. Uma vez que a etapa lenta é a transferência de elétrons, e estando mais próximos os potenciais de redução, mais rápido será a oxidação o que pode refletir em melhor eficiência do catalisador. O monitoramento da formação da banda da quinona em 400 nm, representada na Figura 19, foi uma análise em conjunto para verificar-se o modo como o átomo de cobre(II) poderia estar ligado ao substrato. Não há sinal da formação da semiquinona durante a cinética de oxidação, conforme Figura 19 apresenta apenas uma banda em 400 nm, e isso sugere que o substrato tetraclorocatecol esteja ligado a dois centros metálicos. Formando assim a quinona que tem sua absorção máxima em 400nm.

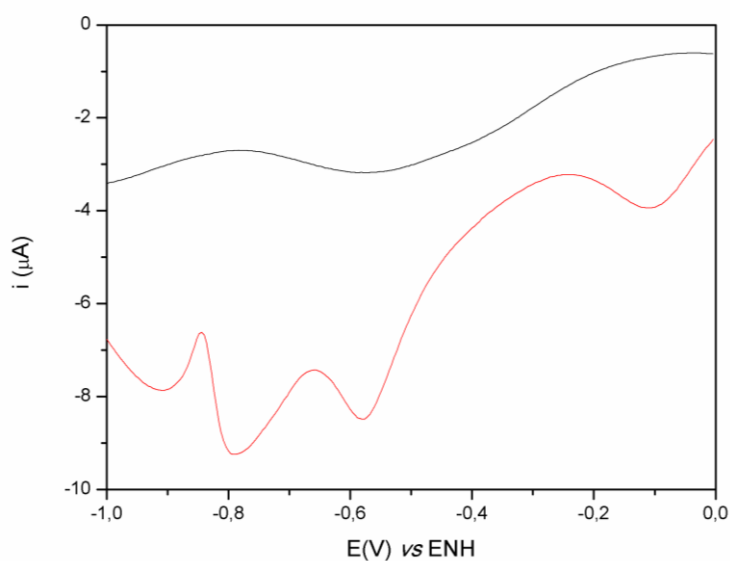


Figura 21. Voltametria de onda quadrada do complexo de cobre(II), em preto, e adições de tetraclorocatecol, em vermelho (1:1). Concentração de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Eletrodo de trabalho: Platina; Referência: Ag/Ag⁺; referência interna hexacianoferrato ($E_{1/2}$ vs NHE = 358 mV)³⁰. Auxiliar: Platina. Eletrólito de suporte: NaClO₄ 0,1 mol L⁻¹, em metanol. Pulso de 25 mV e frequência de 15 Hz. Sentido da redução.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O ligante Hbpa-NO₂-CN foi sintetizado e caracterizado apresentando bom rendimento com grau de pureza adequada para a síntese do complexo de cobre(II). Considerando as técnicas usadas para a síntese, apresentou-se como um ligante simples e de fácil obtenção, e considerando-se o conjunto de análises realizadas, como IV, RMN ¹H e difração de raios X, mostrou-se um ligante com alto grau de pureza;

O complexo de cobre(II) foi sintetizado e apresentou bom rendimento, através de uma síntese rápida e simples formando cristais verdes em poucos dias. Foi possível obter então sua estrutura por difração de raios X, que relacionada com as demais técnicas de IV, ESI-MS foi possível comprovar seu comportamento tanto no estado sólido quanto em solução;

As técnicas de IV inicialmente indicavam a formação do complexo, e a medida de outras análises, como determinação da condutividade molar, espectro eletrônico UV-Vis, potencial redox através da eletroquímica, possibilitou a compreensão de como o metal estava coordenado e sua estrutura espacial;

O efeito de pH mostrou em qual região sua velocidade é dependente do mesmo e qual a região de maior velocidade. Efeitos na variação da concentração do substrato puderam indicar valores e parâmetros como $K_m = 3,01 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $k_{cat} = 1,58 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ e uma eficiência catalítica de $5,25 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ demonstraram ser bons resultados considerando a estrutura do complexo de cobre(II).

A redução do grupo nitrila para um grupo amino pode possibilitar a incorporação de novas estruturas, como espaçadores, grupos funcionais e intercaladores. Realizar estudos do efeito da concentração do complexo sobre o substrato 3,5-DTBC na tentativa de elucidar o mecanismo da reação de oxidação do complexo.

Realizar estudos de titulação potenciométrica e espectrofotométrica para a compreensão de algumas propriedades bem como na tentativa da elucidação de seu mecanismo.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹ SHRIVER, D. F.; ATKINS, P. W. **Química inorgânica**. 4. ed. Porto Alegre: Bookman, 2008. vi, 847 p
- ² COWAN, J. A.; **Inorganic biochemistry: an introduction**. 2nd ed. New York: Ed Wiley – VCH, 1997, 440p.
- ³ NEVES, Ademir. **Química bioinorgânica**. Florianópolis: LED, 2001. 139p.
- ⁴ LIPPARD, S. J.; BERG, J.M.; **Principle of bioinorganic chemistry**. Mill Valley, Calif University Science Books, 1994, 411p.
- ⁵ WALDRON, K.J.; ROBINSON, N.J.; **How do bacterial cells ensure that metalloproteins get correct metal?** *Nature Reviews Microbiology*, 7, 25-35, 2009.
- ⁶ BRUCE, P. Y. **Organic chemistry**. 4th ed. Upper Saddle River: Pearson Education International, 2004, 1228p.
- ⁷ RADZICKA, A.; WOLFENDEN, R.; **“A proficient enzyme”**. *Science* 267: 90–92p, 1995.
- ⁸ LAIDLER, K. J.; **A glossary of terms used in chemical kinetics, including reaction dynamics**, *Pure & Appl. Chem.*, 2009 Vol. 68, N°1, 149-192p,
- ⁹ OSÓRIO, R. E. M.B.; **Síntese e caracterização de novos ligantes macrocíclicos ou intercalantes e seus respectivos complexos trinucleares de cobre (II) e/ou binucleares de ferro (III) como modelos miméticos para as hidrolases/nucleases** Florianópolis, 2012. 158 p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas. Programa de Pós-Graduação em Química
- ¹⁰ VOET, D. and VOET, J. G. **Biochemistry**, Somerset: John Wiley & Sons, Inc., p. 332-344, 1995.

- ¹¹ IUBMB, **Enzyme Nomenclature**, Academic Press, San Diego, 1992.
- ¹² MAYER, A. M. & STAPLES, R. C.; Review – **Lacase: new functions for an old enzyme. *Phytochemistry***, 60: 551-565, 2002
- ¹³ DONOHOE, T. J.; **Oxidation and Reduction in Organic Synthesis**, Oxford University Press Inc, New York, 2000.
- ¹⁴ De OLIVEIRAC, J. A. F.; **Oxidação de catecóis promovida por complexos binucleares de Cu(II): Catálise Homogênea e Heterogênea**. Florianópolis, 2013. 140 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas. Programa de Pós-Graduação em Química.
- ¹⁵ WORRAL, J. A. R.; VIJGENBOOM, E.; **Copper mining in *Streptomyces*: enzymes, natural products and development. *Nat. Prod. Rep.***, 2010,27, 742-756
- ¹⁶ CHAVES, C. C. V.; **Síntese, caracterização e atividade de catecolase de complexos de cobre com ligantes tripodais**. Florianópolis, 2015. 106 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas. Programa de Pós-Graduação em Química.
- ¹⁷ KOVAL, I. A., GAMEZ, P., BELLE, C., SELMECZI, K., REEDJIK, J. **Synthetic models of the active site of catechol oxidase: mechanistic studies. *Chemical Society Reviews***, v.32, p.814-840, 2006.
- ¹⁸ GOTO, M.; YUJI, K.; MASUDA, H.; **Catalytic oxidation of benzene by mononuclear copper(II) complexes with a bis(imidazolyl)methane ligand. *Indian Journal of Chemistry***, Vol. 50A, March-April 2011, pp. 459-464
- ¹⁹ ESMELINDRO, M. C. *et al*; **Synthesis, Characterization and Benzene Oxidation Promoted by a New Mononuclear Copper(II) Complex, [Cu(BTMEA)₂Cl]₂Cl. *J. Braz. Chem. Soc.***, Vol. 17, No. 8, 1551-1557, 2006.

- ²⁰ GARCIA, T. A. **Purificação e caracterização das lacases de *Pycnoporus sanguineus***. 2006. 126 f. Tese (Doutorado em Biologia Molecular) - Universidade de Brasília - DF, Brasília, 2006.
- ²¹ COUTO, S. R.; TOCA-HERRERA, J. L. **Laccase production at reactor scale by filamentous fungi**. *Biotechnology Advances*, v. 25, p. 558-569, 2007.
- ²² SILVA, J. J. da; SANTANA, T. T.; OLIVEIRA, A. C. C.; ALMEIDA, P. H. de; SOUZA, S. G. H. de; LINDE, G. A.; COLAUTO, N. B.; VALLE, J. S. do. **Produção de lacase de fungos basidiomicetos por fermentação submersa com casca de café**. *Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR, Umuarama*, v. 15, n. 2, supl. 1, p. 191-196, jul./dez. 2012.
- ²³ BRITTO, J. M.; RANGEL M. C.; **Processos avançados de oxidação de compostos fenólicos em efluentes industriais**, Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, Campus Universitário de Ondina, 40170-280 Salvador - BA, Brasil
- ²⁴ GERDEMANN, C., EICKEN, C., KREBS, B. **The Crystal Structure of Catechol Oxidase: New Insight into the Function of Type-3 Copper proteins**, *Accounts of Chemical Research*, v. 35, p. 183-191, 2002.
- ²⁵ KLABUNDE, T., EICKEN, C., SACCHETTINI, J. C., KREBS, B.; **Crystal structure of a plant catechol oxidase containing a dicopper center**; *Nature Structural Biology*, v.5, p. 1084-1090, 1998.
- ²⁶ PANDA, M. K., SHAIKH, M. M., BUTCHER, R. J., GHOSH, P.; **Functional mimics of catechol oxidase by mononuclear copper complexes of sterically demanding [NNO] ligands**. *Inorganica Chimica Acta*, v. 372, p. 145-151, 2011.
- ²⁷ FERNANDES, S.C.; OSÓRIO, R. E. M.B; ANJOS A.; NEVES, A.; MICKE, G.A.; VIEIRA, I.C.; **Determination of Catechin in Green Tea using a Catechol Oxidase Biomimetic Sensor**. *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 6, p. 1215-1223, 2008.

- ²⁸ AYAD, M.I.; **Synthesis, characterization and catechol oxidase biomimetic catalytic activity of cobalt(II) and copper(II) complexes containing N2O2 donor sets of imine ligands.** *Arabian Journal of Chemistry*, 2012.
- ²⁹ XIMENES, M.T.; ALVES, W. A.; OLIVEIRA JUNIOR, V. X.; FIORITO, P.A.; HONÓRIO, K. M.; HOMEM-DE-MELLO, P.; **Estudo Teórico de Enzimas Multinucleares de Cobre para Proposta de Materiais Biomiméticos.** Centro de Ciências Naturais e Humanas, Universidade Federal do ABC (UFABC), Santo André, SP, Brazil, 2009.
- ³⁰ Metrohm. Ag/AgCl Reference Electrode (KCl). Disponível em <http://www.metrohm.com/en/products-overview/%7B91AA3DCF-8C8D-4840-B92B-F75584DF84AE%7D>. Acessado em 16 de Novembro de 2015.
- ³¹ ALMEIDA, V. R.; **Atividade *In vitro* e *In vivo* de Um Novo Complexo Binuclear Não-simétrico de Cu(II) Contendo Um Ligante Derivado do 1,4,7-Triazaciclononano: Promiscuidade Catalítica de Fosfatase e Antioxidante.** Florianópolis, 2012. 100 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas. Programa de Pós-Graduação em Química.
- ³² SPEK, A. L.; **Structure validation in chemical crystallography.** *Acta Crystallographica Section D*, D65, p. 148-155, 2009
- ³³ ALTOMARE, A., *et al.* **SIR97: a new tool for crystal structure determination and refinement.** *Journal of Applied Crystallography*, v. 32, p. 115-119, 1999.
- ³⁴ SHELDRICK, G. M.; **SHELXL-97: program for the refinement of crystal structures.** University of Göttinger, Germany, 1997
- ³⁵ GEARY, W.J.; **Characterization of coordination compounds.** *Coordination Chemical Reviews*, v.7, p. 81-122, 1971.

- ³⁶ PERALTA, R. A. **Novos complexos binucleares de cobre (II) e de ferro (III) zinco (II): biomiméticos sintéticos para catecol oxidase e para fosfatases ácidas púrpuras.** Tese de doutorado, UFSC-Florianópolis. 2005.
- ³⁷ PIMENTEL, L. C. F. et al; **Microwave-assisted synthesis of N,N-bis-(2-pyridylmethyl)amine derivatives. Useful ligands in coordination chemistry.** Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, *Tetrahedron Letters*, 48, 831–833, 2007.
- ³⁸ LYOO, W. S. *et al.*; **Solution polymerization behavior of acrylonitrile by moderate temperature azoinitiator.** *European Polymer Journal*, v.35, p.647-653, 1998.
- ³⁹ SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos.** 6ª ed. Rio de Janeiro (RJ): LTC, 2000, 460p.
- ⁴⁰ PAVIA, D. L. *et al.* **Introdução à espectroscopia.** São Paulo: Cengage Learning, 2010.
- ⁴¹ NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman Spectra of Inorganic and coordination compounds.** 3ª ed. John Wiley & Sons, 1997, 448p.
- ⁴² SKOOG, D. A. *et al.*; **Fundamentos de química analítica.** São Paulo: Cengage Learning, 2006. xvii, 999 p
- ⁴³ ADDISON, A. W., RAO, T. N., REEDIJK, J., et al. **Synthesis, structure and spectroscopic properties of copper (II) compounds containig nitrogen-sulfur donor ligands; the crystal and molecular structure of aqua [1,7-bis(Nmethylbenzimidazol-2'-yl)-2,6-dithiaheptane]copper(II) perchlorate.** *Journal Chemical Society, Dalton Transactions*, p.1349-1356, 1984.

⁴⁴ CAMARGO, T. P.; PERALTA, R. A.; MOREIRA, R.; CASTELLANO, E.E.; BORTOLUZZI, A.J. ; NEVES, A. **New mononuclear copper(II) complex based on a salen derivative ligand with an unusual coordination and its catecholase activity.** *Inorganic Chemistry Communications* , v. 37, p. 34-38, 2013.

⁴⁵ OSÓRIO, R. M. **Novos ligantes e Complexos Binucleares de cobre(II) promíscuos: modelos miméticos para as enzimas catecol oxidase hidrolases/nucleases sintéticas.** Dissertação de Mestrado em Química, Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 2007.